

VŠB – Technická univerzita Ostrava
Univerzitní studijní program



**Biosyntéza kovových nanočástic v 3D tištěných
mikrofluidních reaktorech**
**Biosynthesis of metal nanoparticles using 3D printed
microfluidic reactors**

Autor:

Bc. Veronika Rybníčková

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Gabriela Kratošová, Ph.D.

Ostrava 2020

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Veronika Rybníčková**
Studijní program: N3942 Nanotechnologie
Studijní obor: 3942T001 Nanotechnologie
Téma: **Biosyntéza kovových nanočástic v 3D tištěných mikrofluidních reaktorech**
Biosynthesis of metal nanoparticles using 3D printed microfluidic reactors
Jazyk vypracování: čeština

Zásady pro vypracování:

Mikrofluidika se zabývá prouděním tekutin v miniaturizovaných systémech. Očekává se, že se v příštích několika letech podstatně tato disciplína rozšíří, což je stimulováno značným rozvojem aplikací ve farmaceutických, biomedicínských a chemických inženýrských oborech.

Mikrofluidní systémy s sebou nesou řadu výhod, jako jsou např. nízká spotřeba chemikálií, činidel, vzorků, nízké náklady, kvantitativní průběh reakcí, decentralizace výroby aj. Rovněž v syntézách nanočástic nacházejí mikrofluidní systémy uplatnění, protože umožňují operativně zasahovat do procesu syntézy a změnou parametrů ovlivňovat a optimalizovat výsledný charakter nanočástic.

Náplní diplomové práce je: (i) seznámit se s metodou 3D tisku pro přípravu mikrofluidních reaktorů, (ii) naučit se ovládat mikrofluidní aparaturu určenou k průtočné syntéze nanočástic, (iii) realizovat a vyhodnotit pilotní testy mikrofluidní biosyntézy vybraných kovových nanočástic a (iv) porovnat dosažené výsledky s biosyntézou realizovanou ve vsádkovém uspořádání. Pro syntézu nanočástic zelenou cestou budou využity vodné výluhy rostlin a prekursorů kovů. Biosyntetizované nanočástice budou charakterizovány dostupnými analytickými a zobrazovacími technikami. Stěžejní metodou pro charakterizaci velikostní a tvarové distribuce částic bude skenovací elektronová mikroskopie s detekcí prošlých elektronů a výsledky budou konfrontovány s daty z analýzy distribuce velikosti částic (PSD). Závěrem budou diskutovány a shrnuty poznatky o vlivu procesních parametrů na charakter připravených nanočástic a navrženy kroky pro optimalizaci průtočné biosyntézy.

Specifikace cílů:

- 1) Provést rešerši dostupné literatury a shrnout aktuální poznatky o mikrofluidních syntézách nanočástic.
- 2) Ve spolupráci s FMT, katedrou chemie realizovat experimenty mikrofluidní biosyntézy vybraných kovových nanočástic na 3D tištěných mikrofluidních reaktorech a sledovat vliv procesních parametrů na charakter nanočástic.

- 3) Charakterizovat syntetizované nanočástice dostupnými zobrazovacími a analytickými metodami.
- 4) Vyhodnotit experimenty mikrofluidní syntézy nanočástic.

Seznam doporučené odborné literatury:

CONVERY, Neil a Nikolaj GADEGAARD. 30 years of microfluidics. *Micro and Nano Engineering* [online]. 2019, 2, 76-91 [cit. 2019-10-17]. DOI: 10.1016/j.mne.2019.01.003. ISSN 25900072. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590007-219300036>

LU, Mengqian, Adem OZCELIK, Christopher L. GRIGSBY, Yanhui ZHAO, Feng GUO, Kam W. LEONG a Tony Jun HUANG. Microfluidic hydrodynamic focusing for synthesis of nanomaterials. *Nano Today* [online]. 2016, 11(6), 778-792 [cit. 2019-10-17]. DOI: 10.1016/j.nantod.2016.10.006. ISSN 17480132. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1748013216302511>

RAHMAN, Md. a Evgeny REBROV. Microreactors for gold nanoparticles synthesis: from Faraday to flow. *Processes* [online]. 2014, 2(2), 466-493 [cit. 2019-10-17]. DOI: 10.3390/pr2020466. ISSN 22279717. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2227-9717/2/2/466>

KRATOŠOVÁ, Gabriela, Veronika HOLÍŠOVÁ, Zuzana KONVIČKOVÁ, et al. From biotechnology principles to functional and low-cost metallic bionanocatalysts. *Biotechnology Advances* [online]. 2019, 37 (1), 154-176 [cit. 2019-10-17]. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.012. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975018301964>

TABELING, P. *Introduction to microfluidics*. New York: Oxford University Press, 2005. ISBN 0198568649.

LI, Dongqing. *Encyclopedia of microfluidics and nanofluidics*. Second edition. New York, NY: Springer, [2015].

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Gabriela Kratošová, Ph.D.**

Datum zadání: 02.12.2019

Datum odevzdání: 08.05.2020

prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.
vedoucí katedry

Ing. Zdeňka Chmelíková, Ph.D.
prorektorka pro studium

Prohlášení

Prohlašuji, že

- jsem byla seznámena s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. – autorský zákon, zejména §35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního (§60 – školní dílo);
- беру на вѣдомі, же Высoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB – TUO) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě bakalářskou práci užít (§35 odst. 3);
- souhlasím s tím, že bakalářská práce bude archivována v elektronické formě v databázi Ústřední knihovny VŠB – TUO a jeden výtisk bude uložen u vedoucího bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o bakalářské práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO;
- bylo sjednáno, že s VŠB – TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu §12 odst. 4 autorského zákona;
- bylo sjednáno, že užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- беру на вѣдомі, же оdevzdáním své bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (Zákon o vysokých školách) bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Ostravě 5. 6. 2020

.....

podpis (jméno a příjmení studenta)

Horní 80, Ostrava 30, 700 30

.....

adresa trvalého pobytu studenta

Poděkování

Ráda bych touto cestou chtěla poděkovat Ing. Gabriele Kratošové, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce, za vedení, zájem, čas a připomínky, které mi věnovala. Zvláště pak kvůli zhoršeným podmínkám komunikace v důsledku koronavirové krize.

Anotace

Diplomová práce se zaměřuje na biosyntézu zlatých a stříbrných nanočástic pomocí 3D tištěných mikrofluidních čipů. Teoretická část se zabývá řešením problematiky biosyntézy kovových nanočástic, charakterizuje vlastnosti zlatých a stříbrných nanočástic, popisuje mikrofluidiku, mikrofluidní zařízení a veličiny s nimi související. Experimentální část byla zaměřena na pilotní experimenty biosyntézy nanočástic zlata a stříbra na 3D tištěných mikrofluidních čipech. Bylo vybráno několik druhů čipů s rozdílnými meandry, biosyntéza probíhala jak kapkovou metodou, tak i metodou kontinuálního toku. Výsledné zlaté a stříbrné nanočástice byly charakterizovány pomocí skenovací transmisní elektronové mikroskopie (STEM). Na závěr byly shrnuty veškeré poznatky a prokázal se pozitivní vliv průtočných procesů na monodisperzitu, velikost i tvar zlatých a stříbrných nanočástic v porovnání se vsádkovými experimenty.

Klíčová slova: biosyntéza, mikrofluidika, mikrofluidní čip, zlaté nanočástice, stříbrné nanočástice

Počet stran: 82

RYBNÍČKOVÁ V. Biosyntéza kovových nanočástic v 3D tištěných mikrofluidních reaktorech Ostrava, 2020. Bakalářská práce. Vysoká škola Báňská - Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Ing. Gabriela Kratošová, PhD.

Annotation:

This thesis focuses on the biosynthesis of gold and silver nanoparticles using 3D printed microfluidic chips. The theoretical part deals with problematic of biosynthesis of metal nanoparticles, characterizes the properties of gold and silver nanoparticles, describes microfluidics, microfluidic devices and parameters affecting the flow processes. The experimental part was focused on pilot experiments of biosynthesis of gold and silver nanoparticles on 3D printed microfluidic reactors. Several types of chips with different meanders were selected, biosynthesis was performed using droplet method and the continuous flow method. The resulting gold and silver nanoparticles were characterized by scanning transmission electron microscopy. Finally, all results were summarized and positive effect of flow process on monodispersity, size and shape of gold and silver nanoparticles was demonstrated.

Keywords: biosynthesis, microfluidics, microfluidic chip, gold nanoparticles, silver nanoparticles

Number of pages: 82

RYBNÍČKOVÁ V. Biosynthesis of metal nanoparticles in 3D printed microfluidic reactors.

Ostrava, 2020. Bachelor thesis. Vysoká škola Báňská - Technical University of Ostrava.

Thesis supervisor Ing. Gabriela Kratosova, PhD.

OBSAH

ÚVOD	11
1. MECHANISMUS BIOSYNTÉZY NANOČÁSTIC KOVŮ.....	13
1.1 Enzymy závislé na NADH	14
1.2 Biochemické molekuly	15
1.3 Závislost biosyntézy na světelných podmínkách.....	15
2. NANOČÁSTICE ZLATA A STŘÍBRA A JEJICH APLIKACE	17
2.1 Nanočástice zlata	17
2.2 Nanočástice stříbra	18
2.3 Mikrofluidní syntéza nanočástic zlata a stříbra	19
2.4 Aplikace.....	20
3. MIKROFLUIDIKA	23
3.1 Úvod do mikrofluidiky	23
3.2 Historie mikrofluidiky	23
3.3 Proudění kapalin v mikrofluidice	25
3.3.1 Reynoldsovo číslo	25
3.3.1.1 Turbulentní proudění	26
3.3.1.2 Laminární proudění	26
3.3.2 Navier-Stokesova rovnice	27
3.3.3 Kapilární číslo	27
3.3.4 Weberovo číslo.....	29
3.3.5 Bondovo číslo.....	29
3.3.6 Elektroosmotický průtok	29
3.4 Mikrofluidika kontinuálního toku (průtoková).....	30
3.5 Kapková mikrofluidika.....	30
4. MIKROFLUIDNÍ ZAŘÍZENÍ	33

4.1.	Mikrofluidní čip.....	33
4.1.1.	Struktura kanálků	33
4.1.2.	Materiál pro výrobu mikrofluidního čipu.....	33
4.1.2.1.	Sklo a křemík	34
4.1.2.2.	Polymery a elastomery.....	35
4.1.2.3.	Hydrogel	36
4.1.2.4.	Papír	36
4.2.	μTAS (Micro Total Analysis Systém).....	36
4.3.	Lab-on-a-Chip	37
4.4.	Metody výroby	38
4.4.1.	Fotolitografie	38
4.4.2.	Mikroopracování laserem.....	39
4.4.3.	Metoda 3D tisku	39
5.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	40
5.1.	Příprava rostlinných výluhů a vsádková fyto-syntéza nanočástic zlata a stříbra.....	40
5.2.	Použité analytické metody pro vyhodnocení experimentů fyto-syntézy	41
5.3.	3D tisk a geometrie použitých čipů	41
5.4.	Mikrofluidní syntéza nanočástic zlata	43
5.5.	Mikrofluidní syntéza nanočástic stříbra	44
6.	VÝSLEDKY A DISKUZE	47
6.1	Výsledky pro biosyntetizované zlaté nanočástice	47
6.1.1	Vlastnosti nanočástic zlata připravených ve vsádce.....	47
6.1.2	Biosyntéza na mikrofluidní čipu typ 1	48
6.1.3	Syntéza na mikrofluidním čipu typ 4	50
6.2	Výsledky pro biosyntetizované stříbrné nanočástice.....	54
6.2.1	Vlastnosti nanočástic stříbra připravených ve vsádce.....	54
6.2.2	Biosyntéza na mikrofluidním čipu typ 1	55

6.2.3	Biosyntéza na mikrofluidním čipu typ 2	56
6.2.1	Biosyntéza na mikrofluidní čipu typ 3	58
6.2.2	Kapková biosyntéza na mikrofluidní čipu typ 5	59
7.	ZÁVĚR.....	63
	POUŽITÁ LITERATURA A ZDROJE	66
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	80
	SEZNAM TABULEK	82

Úvod

Nanočástice se těší oblibě díky zcela odlišným vlastnostem, než poskytují materiály makroskopické. Nanočástice mají vzhledem ke své velikosti značný reakční povrch. Tato vlastnost pak souvisí s mnoha dalšími charakteristikami, jako je reaktivita, toxicita a katalytické vlastnosti. Jako příklad se dají uvést třeba kvantové tečky a jejich fluorescenční vlastnosti, jejichž vlnová délka emisního světla je závislá na velikosti částic. Zajímavé vlastnosti vykazují i větší struktury než nanočástice, a to například polovodičové nanokrystaly využívané pro jejich magnetické vlastnosti ^[1].

Syntézy nanočástic je možné realizovat pomocí standardních chemických či fyzikálních metod. Avšak nevýhodou některých těchto metod je vysoká energetická náročnost s potřebou užití toxických chemikálií. Další problematickou částí, zvláště pro pozdější aplikace v klinických a biomedicínských sektorech, je při výrobě nanomateriálů potřeba syntetických a vazebných chemických činidel pro optimalizaci procesu a stabilizaci nanočástic ^[1, 2].

Bionanotechnologie je věda, pohybující se na pomezí biotechnologií a nanotechnologií. Je to oblast věnující se syntéze a modifikaci nanomateriálů pomocí biotechnologických přístupů a vycházející z poznatků o fungování živé přírody. Mezi bionanotechnologie řadíme také biosyntézu převážně anorganických nanočástic. Díky zvyšujícím se nárokům na udržitelnost technologických procesů a šetrnost k životnímu prostředí získala biosyntéza kovových nanočástic pozornost výzkumníků jako možná alternativa pro technologickou výrobu nanomateriálů. Biosyntéza jako technologie pro přípravu nanočástic metodou „bottom-up“ byla studována v této diplomové práci.

V biosyntéze se využívá jako zdroj biomolekul vstupujících do procesu syntézy i stabilizace nanočástic biomasa ať už živočišného, či rostlinného původu. O mikroorganismech jako jsou bakterie, houby, aktinomycety, kvasinky nebo také o virech je známo, že mají přirozený potenciál produkovat kovové nanočástice, když se dostanou do kontaktu s kationtem kovu. Využívají k tomu intra nebo extracelulární pochody a jsou tedy zkoumány jako potenciální „biologické továrny“ na výrobu nanočástic ^[1, 2]. Specifickou skupinou biosyntéz jsou takzvané fytosyntézy. Fytosyntéza využívá jako biomasu výhradně rostliny – ať už celou rostlinu nebo její části. Studium rostlinných extraktů a výluhů jako redukčních činidel kovových iontů pro syntézu jejich nanočástic je zajímavé hlavně díky jednoduchosti provedení

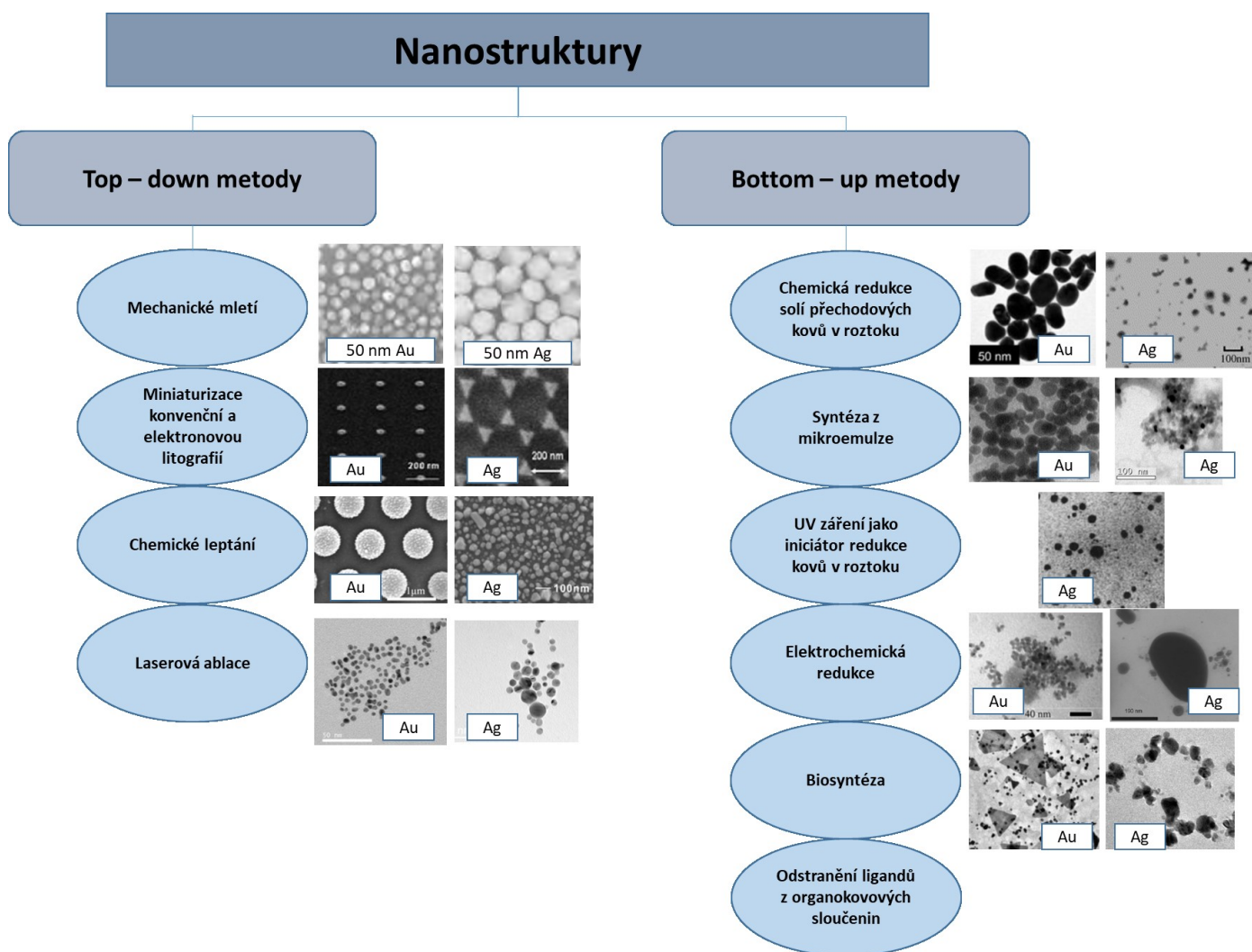
a nízké ekonomické náročnosti. Schopnost výtažků rostlin přirozeně redukovat i stabilizovat kovové nanočástice v jednom kroku umožňuje přípravu nanočástic jako například zlata, stříbra, platiny či paládia ^[1, 2, 3]. Stále atraktivními jsou nanočástice zlata a stříbra. Jejich uplatnění zabírá široké pole a zasahuje do téměř všech oblastí, jako příklad můžeme uvést fototerapii, dodávání léků, biosenzory pro detekci virů a bakterií, cílená léčba rakoviny, uplatnění v elektronice, katalýze, apod. ^[4, 5]

Konceptem této práce je biosyntéza zlatých nanočástic za využití výluhu z *Picea abis* (smrk ztepilý) a stříbrných nanočástic za využití výluhu z květu *Tilia cordata* (lípa srdčitá). Vstupní experimenty byly prováděny standardně vsádkovou (kádinkovou, angl. *batch*) syntézou. Následně bylo využito mikrofluidních čipů pro optimalizaci vlastností nanočástic. Teoretická část shrnuje základní principy biosyntézy nanočástic kovů zlata a stříbra, základní principy fungování mikrofluidních čipů, popisu jejich geometrie a možnosti využití těchto zařízení při syntéze nanočástic a zpracovává již dosažené poznatky a o vlivech procesních parametrů na vlastnosti takto připravených nanočástic. Praktická část je zaměřena na porovnání nanočástic připravených vsádkovou syntézou s nanočásticemi připravenými na mikrofluidních čipech. Zlaté nanočástice byly připravovány na mikrofluidních čipech různými metodami a bylo sledováno několika faktorů, např. průtoková rychlost, geometrie čipu a způsob mikromixování reaktantů, koncentrace rostlinného výluhu, aby mohl být porovnán vliv různých faktorů na výsledný charakter produktu, tedy nanočástic.

Teoretická část

1. Mechanismus biosyntézy nanočástic kovů

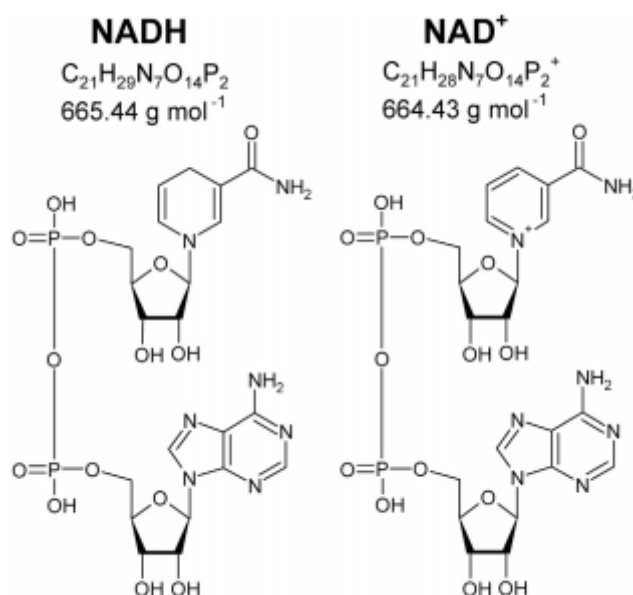
Jedním ze směrů, kterým se bionanotechnologie zabývají, je interakce mezi biomasou a kovovými ionty, která vede k syntéze metalických materiálů v nanorozměrech. Jak bylo zmíněno v úvodu, jednou z možných metod pro přípravu nanočástic kovů, je biosyntéza (Obr. 1). Termín biosyntéza zaštiťuje především vznik a stabilizaci anorganických nanočástic působením molekul biologického systému. Pokud budeme uvažovat konkrétně fytyosyntézu, pak je biomasou vždy výluh nebo extrakt z části, případně z celé rostliny, který interaguje s kovovými ionty v prekurzoru. Prekurzorem pak bývá rozpustná sůl kovu, jehož nanočástice chceme připravit (roztoky HAuCl_4 [6], AgNO_3 [7], PdCl_2 , $\text{H}_2\text{PtCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [8], $\text{Zn(NO}_3)_2$ [9]). V případě nanokovů (Au, Ag, Pt, Pd, aj.) dochází k jejich redukci, u oxidů či jiných sloučenin se uplatňují jiné mechanismy (např. substituce), které vedou k formování nanočástic. V rostlinném výluhu/extraktu jsou obsaženy metabolity rostliny – fytochemikálie. Mnoho autorů již navrhlo možné reakční mechanismy na základě svých experimentů. Některé z těchto mechanismů budou rozvedeny v následujících podkapitolách se zaměřením na biomolekuly nejvíce aktivní v syntéze nanočástic a nebo stabilizaci [2].



Obr. 1: Rozdělení metod používaných pro výrobu nanočástic a zařazení biosyntéz. Schéma je doplněné snímky z elektronového mikroskopu, na kterých jsou pro ilustraci zobrazeny nanočástice zlata a stříbra připravené danou metodou [upraveno 10 - 22]

1.1 Enzymy závislé na NADH

Nikotinamid adenin dinukleotid (NAD) je koenzym a jeho oxidovaná (NAD^+) a redukovaná (NADH) forma jsou zodpovědné za přenos elektronů při redoxních reakcích v biochemických procesech. Je předpokládáno, že NADH věnuje elektrony na redukci kovových iontů. Jednou z teorií je, že biosyntéza nanočástic ušlechtilých kovů by mohla být řízena enzymy, zejména těmi závislými na NADH. Nejvíce je tato teorie používána jako vysvětlení pro syntézu za použití heterotrofních mikrobu^[23], avšak lze ji také aplikovat u rostlin^[23], mikrořas^[24] a bakterií (*Streptomyces* sp.)^[25].



Obr. 2: Molekulární struktura NADH a NAD⁺ [převzato a upraveno z 26]

1.2 Biochemické molekuly

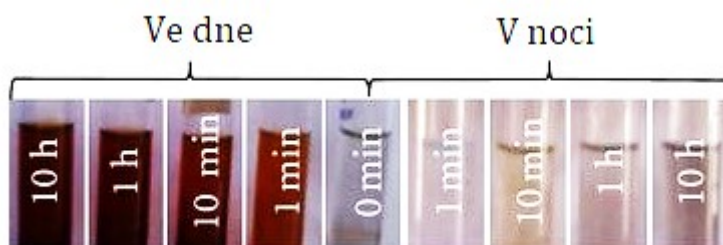
Biomasa ať už živočišného či rostlinného původu obsahuje cukry. Většina těchto cukrů obsahuje redukční funkční skupiny. V tomto případě jsou za donory elektronů považovány organické molekuly. Například byla publikována studie, která ukazovala, že pro biosyntézu stříbrných nanočástic lze použít mnoho různých monosacharidů (ribózu, fruktózu, glukózu, sorbózu, xylózu či galaktózu) [27]. V jiné studii byly jako redukční činidla použity polysacharidy. V této studii byla využita jako biomasa zelená řasa (*Spyrogira insignis*) k syntéze nanočástic stříbra. Autoři navrhovali, že polysacharidy pektiny obsažené v této řase byly redukčním činidlem s nejvíce aktivními –OH skupinami při redukci nanočástic [28].

1.3 Závislost biosyntézy na světelných podmínkách

Některé biosyntetické reakce jsou závislé na světelných podmínkách. V této teorii byly určeny jako reaktivní biomolekuly pigmenty jako chlorofyl [29], riboflaviny [30], apod. Zajímavým příkladem byla studie, kdy byly z listů *Potamogeton nodosus* a *Spinacia oleracea* odděleny thylakoidy/chloroplasty, pomocí kterých byly syntetizovány zlaté nanočástice. Za normálních světelných podmínek byla produkce zlatých nanočástic značně vyšší než ve tmě.

Autoři tento fakt zdůvodňují tím, že Au^{3+} ionty přijímaly elektrony z H_2O , kde zprostředkovatelem syntézy byly chloroplasty poháněné světlem [31].

Jiná studie se zabývala vlivem záření na vysokých energetických hladinách, jako je modré či fialové světlo, při experimentu se zelenými řasami *Neochloris oleoabundans* využitých pro biosyntézu stříbrných nanočástic. Do extraktu z buněk zelené řasy byl přidán chlorofyl (za aktivního působení záření na vysokých energetických hladinách), což zvýšilo produkci stříbrných nanočástic. Tyto informace vytvořily podklady pro hypotézu, že H_2O je „neomezený“ donor elektronů a chlorofyly lze považovat za znovupoužitelné zprostředkovatele elektronů. Zapojení enzymů a koenzymů jako součástí fotosyntetického řetězce při přenosu elektronů a reakce štěpení vody však čeká na další potvrzení a opětovné experimentální ověření [32].



Obr. 3: Syntéza stříbrných nanočástic v závislosti na světelných podmínkách [upraveno 30]

2. Nanočástice zlata a stříbra a jejich aplikace

2.1 Nanočástice zlata

V periodické tabulce prvků najdeme zlato (Au, lat. *Aurum*) ve skupině d-prvků konkrétně v 11. skupině 6. periodě. Oxidační čísla zlata jsou 0, I a III. Zlato je vysoce chemicky odolné vůči kyselinám, zásadám i kyslíku. Rozpouští se pouze v lučavce královské, což je směs kyseliny dusičné a chlorovodíkové v poměru 1:3. Je to velmi dobře tepelně i elektricky vodivý a poměrně měkký drahý kov žluté barvy. Díky svému nízkému přechodovému odporu a odolnosti vůči korozi je ceněným materiálem v elektronice ^[33].

Nanočástice zlata jsou specifické svými vlastnostmi. Obecně platí, že když se výrazně zvyšuje poměr počtu atomů v povrchové vrstvě oproti atomům v objemu, jsou také ovlivněny vlastnosti materiálu. Kromě změny plynoucí z velkého měrného povrchu, dochází také k ovlivnění fyzikálních (hustota, teplota tání) a chemických vlastností. Mezi povrchovými atomy kovových nanočástic dochází ke změně délek vazeb (především kontrakci). Nárůst povrchové energie je kompenzován elastickou deformací povrchové vrstvy atomů a dochází ke zvýšení elastické energie. V rozporu s kontrakcí délek vazeb povrchových vrstev atomů hustota tenkých kovových vrstev se se zmenšující tloušťkou klesá. Zajímavě jsou také optické vlastnosti zlatých nanočástic, a s tím související plasmonová rezonance. Plasmony jsou energetické stavy, vyznačující se kolektivní oscilací delokalizovaných elektronů v krystalické struktuře kovů ^[34]. Elektrony mohou být na tyto energetické hladiny vybuzeny absorpcí kvanta energie vnějšího elektromagnetického záření. Barevná změna koloidních roztoků, která je taky prvním signálem biosyntézy, je způsobena rozptylem světla na částicích (Obr. 4). Díky rozdílné velikosti a tvaru nanočástic pak můžeme pozorovat barvy, které jsou velmi odlišné od barvy standardního makroskopického zlata ^[33, 34].



Obr. 4: Barevná změna roztoku koloidního zlata na základě velikosti nanočástic ^[35]

Při biosyntéze nanočástice, jsou výsledný tvar a velikost ovlivněny výběrem biomasy, Při fyto syntéze, jak již bylo řečeno, je hlavní druh a množství fytochemikálií obsažených v rostlině. Pro ukázkou, jakým způsobem může výběr biomasy ovlivnit charakter a velikost nanočástic, byly vybrány některé příklady pro biosyntézu zlatých částic (Tabulka 1).

Tabulka 1: Přehled vybraných biosyntetizovaných zlatých nanočástic a jejich charakteristika

Český název	Latinský název	Velikost nanočástic	Tvar nanočástic	Reference
Citrus limeta	<i>Citrus aurantifolia</i>	15 - 20 nm	sférické, trojúhelníkové	[36]
Dračinec dračí (list)	<i>Dracaena draco L</i>	24 nm	sférické, tyčinkové, trojúhelníkové, hexagonální a pentagonální	[37]
Kudzu	<i>Pueraria lobata</i>	18 nm	sférické, trojúhelníkové	[38]
Perila křovitá (list)	<i>Perilla frutescens</i>	50 nm	trojúhelníkové	[39]
Delonix královská (list)	<i>Delonix regia</i>	4 - 24 nm	Sférické	[40]
Ibišek súdanský	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	10 -60 nm	Sférické	[41]
Oslizák líbezný	<i>Aegle marmelos</i>	4 - 10 nm	Sférické	[42]
Dilenie indická (plod)	<i>Dillenia indica</i>	5 - 50 nm	Různé	[43]
Máta peprná	<i>Mentha piperita</i>	78 nm	Různé	[44]
Meduňka lékařská	<i>Melissa officinalis</i>	10 nm	Různé	[45]

2.2 Nanočástice stříbra

Stříbro (Ag, lat. *Argentum*), stejně jako zlato, patří mezi přechodové d-prvky. V periodické soustavě prvků se nachází v 11. skupině 5. periodě. Stříbro má oxidační čísla 0 a I. Jedná se o ušlechtilý kov, který je nejlepším vodičem tepla i elektrického proudu ze všech kovů. Rozpouští se pouze v kyselině dusičné [33]. V případě koloidního stříbra jsou vlastnosti spjaty s velikostí částic. Čím je velikost částic menší, tím se zvyšují například antibakteriální účinky či cytotoxicita. Nanočástice stříbra se také vyznačují různými tvary částic, jako jsou trojúhelníky, koule, čtverce nebo tyčinky. Díky těmto změnám ve struktuře a velikosti částic se mění i barva koloidního stříbra [46].

Velikost a tvar nanočástic je ovlivněna výběrem biomasy, což je ukázáno na vybraných příkladech v Tabulce 2.

Tabulka 2: Přehled vybraných biosyntetizovaných stříbrných nanočástic a jejich charakteristika

Český název	Latinský název	Velikost nanočástic	Tvar nanočástic	Reference
Perila křovitá (list)	<i>Perilla Frutescens</i>	40 nm	sférické	[47]
Merlík bílý (list)	<i>Chenopodium album</i>	10 – 30 nm	kvazi-sférické	[48]
- (list)	<i>Piliostigma thonningii</i>	50 – 114 nm	sférické	[49]
Meduňka lékařská (list)	<i>Melissa officinalis</i> L.	13 nm	sférické	[50]
Mandarinka obecná (kůra)	<i>Citrus reticulate</i>	27,4 nm	kubické	[51]
Kropenáč latnatý	<i>Swertia paniculata</i>	31 – 44 nm	sférické	[52]
Mahagon protizimní (plod)	<i>Soyimida febrifuga</i>	14,27 nm	sférické	[53]
Wedelie čínská (list)	<i>Wedelia chinensis</i>	31,68 nm	sférické	[54]
Limonie nakyslá (list)	<i>Limonia acidissima</i>	21 – 42 nm	sférické	[55]
Puškovec obecný	<i>Acorus calamus</i>	31,83 nm	sférické	[56]

2.3 Mikrofluidní syntéza nanočástic zlata a stříbra

Dalším možným faktorem jak ovlivňovat syntézu nanočástic je pomocí mikrofluidiky. Jak bude detailněji popsáno v dalších kapitolách (kap, 3), pro potřeby syntézy je nutné pouze velmi malé množství tekutin. Práce s mikrofluidními čipy umožňuje lepší kontrolu reakčních podmínek jako například průtok kanálky, přidávání činidla, kontrola teploty apod. V tomto případě mohou být reakce řízeny v různých fázích syntézy, což vede k flexibilnímu kinetickému a termodynamickému řízení mikrofluidních procesů. Všechny parametry je možné korigovat tak, aby výsledné nanočástice měly požadovanou velikost, tvar či krystalové struktury.

Biosyntéza nanočástic na mikrofluidních čípech je novým pojetím této biotechnologie jako takové s cílem zlepšit řiditelnost a reprodukovatelnost metody. Při biosyntéze nanočástic na mikrofluidním čipu má velký vliv na výsledný charakter nanočástic (tvar, velikost a strukturu) vnitřní průměr, materiál a povrch stěn kanálků, koncentrace vstupních reaktantů. Existuje jen málo prací zabývajících se průtočnou biosyntézou nanočástic. Pro ilustraci jsou v Tabulce 3 uvedeny některé výsledky mikrofluidních biosyntéz nanočástic ušlechtilých kovů, kde je ukázán vliv průtokové rychlosti na tvar a velikost částic. Studie došly k závěru, že řízená průtočná syntéza na mikrofluidní platformě poskytuje nanočástice s lepší velikostí distribucí, stabilitou v koloidním prostředí i jednotnou tvarovitostí [57]. V současné době jsou nejčastěji připravovány nanočástice kovů, zejména zlato a stříbro [58].

Tabulka 3: Přehled vybraných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu

Nanočástice	Název rostliny	Průtoková rychlost	Velikost částic	Tvar částic	Reference
Ag	<i>Cacumen platycladi</i> (list)	kontinuální tok			
		200 µl/min	3,5 nm	Polykrystalické	[59]
		300 µl/min	4,2 nm	Polykrystalické	
		400 µl/min	7,2 nm	Polykrystalické	
		500 µl/min	5,2 nm	Polykrystalické	
		600 µl/min	3,0 nm	Polykrystalické	
Ag	<i>Tilia cordata</i>	kontinuální tok			
		250 µl/min	18,7 nm	Sférické	[60]
		500 µl/min	23,7 nm	Sférické	
		1000 µl/min	19,4 nm	Sférické	
Au	<i>Tilia cordata</i>	kontinuální tok			
		250 µl/min	31,7 nm	Sférické	[60]
		500 µl/min	22,1 nm	Sférické	
		1000 µl/min	37,5 nm	Sférické	

2.4 Aplikace

Velice výhodné pro aplikace jsou zejména nanočástice ušlechtilých kovů, jelikož jsou stabilnější než jiné kovové nanočástice. Nanočástice ušlechtilých kovů mohou být využity jako katalyzátory [60], antibiotika, látky pro cílenou léčbu rakoviny, transport léčiva a další. Aplikace budou dále rozvedeny v samostatných podkapitolách. V některých (především medicínských a

klinických) aplikacích jsou nanočástice kovů vhodné, díky jejich vynikající biokompatibilitě [45, 60].

Katalyzátory jsou takové látky, které svou přítomností mění rychlost chemické reakce. Z reakce vystupují ve stejné podobě, jako do ní vstoupily. Díky jejich přítomnosti se snižuje aktivační energie, a tím se urychluje celá chemická reakce. Pokud jsou všechny složky reakce včetně katalyzátoru ve stejné fázi, pak se jedná o homogenní katalýzu. Reakce, kde jsou složky reakce v jiné fázi, než je katalyzátor, tedy nazýváme heterogenní. U heterogenní katalytické reakce probíhá reakce na povrchu katalyzátoru. Pevné katalyzátory jsou urychlovače chemických reakcí pro reaktanty v plynné nebo kapalně fázi. Jedná-li se o kovové katalyzátory, pak katalýza probíhá pouze na jejich povrchu [62].

V porovnání s běžným makroskopickým kovem jsou kovové nanočástice katalyticky aktivní [63]. To je dáno vysokým poměrem povrchu k objemu a velmi aktivními atomy na povrchu nanočástic. Poměr povrchu k objemu částice totiž exponenciálně roste se snižující se velikostí nanočástice. Jelikož komerčně dostupné katalyzátory jsou připravovány pomocí drahých chemických činidel a toxických látek a následně se ještě musí pracně stabilizovat, aby nedocházelo k agregaci, nahrazují se biosyntetizovanými nanočásticemi (Au, Ag, Pt, Pd, apod.) [62].

Nejznámější aplikací je antimikrobiální aktivita stříbrných nanočástic. Nanočástice stříbra mají antibakteriální [64], antimykotické [65] a antiparazitární [66] vlastnosti. Účinky stříbrných nanočástic jsou fatální pro mikroorganismy, protože způsobují přerušení transportu elektronů nebo narušení propustnosti membrány.

I přesto že proběhly rozsáhlé studie kovových nanočástic, jak bylo výše uvedeno, je třeba si uvědomit, že nanotechnologie jsou stále v určitém stavu, ve kterém jdou chemicky syntetizované nanočástice snadněji vyrábět, kontrolovat a industrializovat. Na druhé straně je nespornou výhodou biokompatibilita biosyntetizovaných nanočástic. Zvláště pak nanočástice zlata jsou uvažovány jako možný nástroj v boji proti rakovině. Pokud jsou připraveny pomocí fytosyntézy, vykazují selektivní toxickou aktivitu proti rakovinným buňkám. Toho se dá využít v její cílené léčbě. Vědci uvedli, že pro lidský organismus a buňky nejsou nanočástice zlata toxické [67].

V mikroelektronice nachází využití koloidní zlato. To je užíváno k opravě poškozených spojů citlivých na teplo. V případě přehřátí obvodu by došlo k nenávratnému poškození. Na rozdíl od makroskopického zlata je výhodou koloidního zlata jeho velmi nízká teplota tání.

Roztok zlata se tedy nanese na postižený spoj, zahřeje se na bezpečnou teplotu, dojde k roztavení zlata a obnově obvodu ^[35].

3. Mikrofluidika

3.1 Úvod do mikrofluidiky

Klíčovými parametry ve vývoji nových moderních experimentálních metod v přírodních vědách jsou především miniaturizace a automatizace. Mikrofluidika je v této oblasti dominantní technologií, jelikož umožňuje manipulaci s objemy tekutin v řádech nano-, piko- případně i fentolitřů. Toto je umožněno využitím mikroprostředí kanálků o rozměrech desítek mikrometrů. Jedná se tedy o miniaturizované systémy, umožňující provést velké množství experimentů v krátkém časovém úseku s minimálními nároky na objem vzorku a spotřebu činidla. Mikrofluidní zařízení jsou velmi snadno přenosná a výhodou je i možnost integrace a paralelní syntézy či analýzy s vysokou mírou kontroly procesních parametrů, čímž se zlepšuje i reprodukovatelnost procesu.

Analýza proudění malého množství tekutin je v posledních letech stále více důležitá, protože je teoretickým základem pro nové mikrotechnologie jako jsou mikroelektromechanické systémy (MEMS), mikroanalytické systémy (Mikro Total Analysis System μ -TAS) a laboratoře na čipu (Lab-on-a-Chip). Získávají tedy výrazný význam zvláště v odvětvích molekulární biologie, buněčné biologií, syntéze v chemickém průmyslu a medicíně při diagnostice či analýze např. DNA [68].

3.2 Historie mikrofluidiky

Ačkoliv k mnoha průlomům v mikrofluidice došlo na konci 20. století, její počátky jsou úzce spojeny s počátky mikroelektroniky. Počátek vývoje těchto zařízení vycházel z několika základních milníků. Prvním důležitým milníkem, byla potřeba zlepšit spolehlivost mechanických reléových systémů používaných v telefonních linkách. William Shockley, Walter Brattain a John Bardeen v roce 1947 vynalezli tranzistor. V souvislosti s tímto objevem vyvstal požadavek posunout možnosti k vytváření vzorů pro desky s plošnými spoji či potřeba vytvářet mnohem jemnější detaily pro výrobu polovodičových zařízení. [69].

S metodou, která toto umožňovala, přišel Jay Andrus¹ a patentoval techniku fotografování (fotochemické obrábění). Podobným procesem používaným při výrobě integrovaných obvodů je fotolitografie, která se stala standardem v mikroelektronické výrobě.

¹ J. Andrus, U.S. Patent No. 3,122,817, U.S. Patent and trademark Office, Berkeley Heights, N.J (1957)

Tuto práci podpořil Jack Kilby² (Nobelova cena udělena v roce 2000), který popsal možnosti výroby tranzistorů, rezistorů a kondenzátorů v jednotlivých křemíkových krystalech a vytvořil oscilátorový obvod. Tato demonstrace vůbec prvního integrovaného obvodu přinesla revoluci v mikroelektronice a nastal takzvaný „věk křemíku“. S těmito poznatky se ve společnosti začaly zvyšovat nároky na vytvoření menší a spolehlivější elektroniky [70, 71].

Druhým vlivným milníkem v mikrofluidním průmyslu byla technologie inkoustového tisku. Ačkoliv byla technologie poprvé prakticky realizována v roce 1965 Richardem Sweetem, mechanismus tiskárny byl poprvé popsán už v roce 1879 Walterem Rayleighem. S využitím poznatků od Reyleigha Sweet provedl experiment, kdy byl inkoust vytlačován malou vibrační tryskou o průměru 35 μm . Jakmile inkoust opouštěl trysku, vytvořily se malé samostatné kapičky, které byly poté nabity vstupní elektrodou. Kapičky byly následně odkloněny elektrickým polem v závislosti na jejich náboji, než dopadly na papír. Posunuje-li se papír pod tryskou, získá se stopa náboje každé kapky v závislosti na čase. Sweet prokázal, že je takto možno získat oscilograf schopná zaznamenat střední frekvenci, který byl pohodlný pro uživatele a zároveň levnější než využívané optické metody. Tento vynález lze považovat za první mikrofluidní zařízení [72].

Následně byla v roce 1977 ve firmě IBM pomocí fotolitografie vyrobena řada inkoustových trysek v křemíkových destičkách. To nejen pomohlo se snížením ceny inkoustových tiskáren, ale také ukázalo, že křemík je vhodným materiálem pro hromadnou výrobu mikrofluidních zařízení. V dnešní době jsou již však upřednostňovanými materiály organické polymery a toto téma je rozvedeno dále v samostatné podkapitole.

Jak postupoval čas, byla vyvinuta širší řada senzorů a převodníků, jakož i zdokonalené fotolitografické a leptací techniky pro křemík. Vědci začali věnovat pozornost použití těchto technik k řešení problému mimo elektroniku. Takovou oblastí byla molekulární analýza či výroba mikroskopického plynového chromatografu, kde bylo možno využít výhody minimalizace fluidních systémů. Mikroskopický plynový chromatograf byl první, jenž je nyní považován za „laboratoř na čipu“ nebo „mikro-totální analytický systém“. Od této doby je datováno zrození mikrofluidiky jako samostatného oboru [73].

² J.S. Kilby, U.S. Patent No. 3,138,743, U.S. Patent and Trademark Office, Dallas, TX (1964)

3.3 Proudění kapalin v mikrofluidice

3.3.1 Reynoldsovo číslo

Silové poměry v objemech kapaliny jsou charakterizovány Reynoldsovým číslem. Toto číslo určuje typ proudění na základě různých parametrů, kterými jsou charakteristické rozměry trubice, kinematická viskozita kapaliny a rychlost proudící kapaliny. Jedná se o poměr setrvačných a viskózních sil ^[74, 75]. Reynoldsovo číslo můžeme vypočítat ze vztahu:

$$Re = \frac{\rho \cdot u \cdot D}{\eta} = \frac{u \cdot D}{\nu}$$

Re	Reynoldsovo číslo	[-]
η	dynamická viskozita	[Pa·s]
ρ	hustota	[kg·m ⁻³]
u	rychlost proudící kapaliny	[m·s ⁻¹]
D	charakteristický rozměr kapiláry	[m]
ν	kinematická viskozita kapaliny	[m ² ·s ⁻¹]

Charakteristický rozměr kapiláry neboli kanálku v mikrofluidním zařízení se vypočítá pomocí vzorce:

$$d_H = \frac{4 \cdot S}{O}$$

d_H	hydraulický průměr	[m]
S	plošný průřez	[m ²]
O	smočený obvod stěn	[m]

Po dosazení do rovnice vychází, že pro kanálky s kruhovým průřezem dosazujeme přímo průměr kanálku, pro kanálky s čtvercovým průřezem se dosazuje délka hrany a pro složitější tvary průřezů se dosazuje hydraulický průměr ^[74, 75].

Podle hodnoty Reynoldsova čísla můžeme určit u kapaliny:

- a) Turbulentní proudění
- b) Laminární proudění
- c) Přechodové proudění

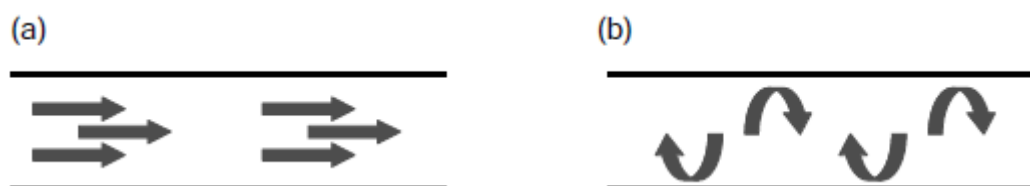
3.3.1.1 *Turbulentní proudění*

Turbulentní proudění je v případě průtoku trubicí kruhového průřezu dané hodnotou $Re > 2320$. Toto proudění vzniká díky různé rychlosti pohybu částic, dochází tedy k vytváření vírů a mísení kapalin. Je charakteristické pro širší průřezy kanálků a vysokou průtočnou rychlost. V případě Reynoldsova čísla v blízkosti spodní hranice, dochází zde k přechodovému proudění mezi turbulentním a laminárním prouděním.

3.3.1.2 *Laminární proudění*

Laminární proudění je dané hodnotou $Re < 2320$. V tomto proudění se částice pohybují po rovnoběžných vrstvách. Jelikož se vrstvy pohybují po sobě, nedochází k mísení složek napříč průřezem. Laminární proudění je charakteristické pro systémy s malým rozměrem průtočných kanálků a menšími průtokovými rychlostmi.

Jelikož se v mikrofluidice setkáváme s Reynoldsovým číslem v řádech jednotek až maximálně stovek, uvažujeme zde pouze laminární proudění (Obr. 5). Z tohoto důvodu je nutné uvažovat o problematice míchání pracovních látek, jelikož je zde absence turbulentních vírů. Laminární proudění umožňuje také lepší regulaci průtoku, což je výhodou pro experimenty, které mohou být lépe kontrolovány v mikroskopickém než v makroskopickém měřítku. Monitoring procesů pak může probíhat různými metodami a to kapičkovou, papírovou, spojitou nebo digitální metodou ^[74, 75].



Obr. 5: Schématické znázornění a) laminárního proudění, b) turbulentního proudění ^[74]

Proudění kapalin se v mikro- a nano-kanálcích podstatně liší od konvenčního proudění. Je to dáno poměrem povrchu k objemu. Při proudění velmi malých objemů tekutin se projevují určité jevy, které jsou zanedbatelné u konvenčního proudění a naopak, některé jevy konvenčního proudění není možné aplikovat na proudění v mikrofluidice.

Jelikož je pro mikrofluidní proudění podstatný poměr povrchu k objemu, jsou v nanokanálcích výrazně důležité vlastnosti povrchu – drsnost, hustota elektrického náboje na povrchu či zda je povrch hydrofobní nebo hydrofilní. Velkou výhodou je hydrofobní povrch, díky tomu je možné dosáhnout výrazně vyšší průtokové rychlosti. Kapalina neulpívá na stěnách a mezi stěnou a kapalinou je velmi malé tření ^[75].

3.3.2 Navier-Stokesova rovnice

Jedná se o matematickou formulaci zákona zachování hybnosti proudící viskózní kapaliny. Tato diferenciální rovnice popisuje laminární proudění nestlačitelné Newtonské tekutiny. Navierova-Stokesova rovnice je analyticky řešitelná jen v několika málo případech jednoduchých toků. Ve složitějších případech je nutno rovnici řešit numericky. Sčítáme lokální zrychlení a konvektivní zrychlení, což se rovná zrychlení vnějších objemových sil, mínus suma tlakových sil a sil třecích podle vztahu:

$$\frac{\partial u_i}{\partial t} + u_j \frac{\partial u_i}{\partial x_j} = a_i - \frac{1}{\rho} \frac{\partial p}{\partial x_i} + \frac{\mu}{\rho} \frac{\partial^2 u_i}{\partial x_j \partial x_j}$$

V makromolekulárním měřítku je na stěně aplikována podmínka ulpívání. Tato podmínka nám říká, že kapalina ve vzájemné interakci se stěnou se pohybuje stejnou rychlostí jako stěna samotná, což ovšem v mikrofluidice z důvodů malých rozměrů neplatí ^[75].

3.3.3 Kapilární číslo

Kapilární číslo (Ca) udává poměr viskózních sil a sil povrchového/mezifázového napětí. Je to jedna z veličin velmi podstatných a nezanedbatelných pro správné fungování mikrofluidních zařízení, avšak u klasického proudění ji lze zanedbat. Kapilární číslo úzce souvisí s kapilaritou. Kapilarita je souhrnné označení jevů pozorovaných při proudění kapaliny v kapiláře, v tomto případě kanálcích ^[75].

$$Ca = \frac{\eta \cdot u}{\sigma}$$

Ca	kapilární číslo	[-]
η	dynamická viskozita	[Pa·s]
u	rychlost proudící kapaliny	[m·s ⁻¹]
σ	povrchové/mezifázové napětí	[n·m ⁻¹]

Díky povrchovému napětí kapaliny mohou nastat dvě situace – adheze nebo koheze. Adhezi se rozumí přilnavost tekutin k povrchu. Takovýmto povrchem je nejčastěji kanálek nebo hadička, kterými tekutina proudí. Dále pak jakákoliv součástka, která přichází do přímého kontaktu s touto tekutinou (míchadla, mikroventily, mikroreaktory, apod.). Pokud je adheze vysoká, dochází k interakci a zanášení mikrofluidního čipu, což může vést ke zkreslení výsledků, či přímo ucpání a neprůchodnosti kanálků (Obr. 6). Adhezi různých tekutin k povrchu mikrofluidního zařízení je možné ovlivnit ošetřením vnitřních stěn jiným vhodnějším materiálem [74].



Obr. 6: Mikrofluidní čip zanesený zlatými částicemi

Kohezi chápeme jako soudržnost molekul tekutiny mezi sebou. Je-li soudržnost molekul vyšší než přilnavost k určitému povrchu, jedná se o povrch nesmáčivý, též hydrofobní. V opačném případě, kdy je adheze větší než koheze, je povrch smáčivý čili hydrofilní. Pokud vztáhneme kohezní síly tekutiny na jednotku plochy, vyjádříme tak tlak kohezních sil. Pokud

mají tekutiny podobné kohezní síly a kohezní tlaky, pak jsou mísitelné. Naproti tomu v druhém případě, kdy jsou tekutiny nemísitelné, se vytváří mezi tekutinami fázové rozhraní [74].

3.3.4 *Weberovo číslo*

Weberovo číslo (We) má uplatnění v případech vícefázového proudění tekutin, a především s velmi silně zakulaceným mezifázovým povrchem např.: kapky (využití pro kapičkovou mikrofluidní syntézu). Toto číslo dává do poměru setrvačné síly tekutiny se silami povrchového napětí [76]:

$$We = \frac{\rho \cdot u^2 \cdot d}{\sigma}$$

We je závislým parametrem, lze jej vyjádřit také součinem Re a Ca :

$$Re \cdot Ca = \frac{\rho \cdot u \cdot D}{\eta} \cdot \frac{\eta \cdot u}{\sigma} = \frac{\rho \cdot u^2 \cdot d}{\sigma}$$

3.3.5 *Bondovo číslo*

Bondovo číslo (Bo) udává poměr vztakových sil a sil povrchového napětí. Využívá se v případech, kdy jedna z fází je v plynném skupenství (tvorba bublinek, tvorba kapek v nosné plynné fázi). Bondovo kritérium slouží jako ukazatel tvaru bublin. S jeho rostoucí hodnotou dochází k deformaci bublin/kapek od kulového tvaru přes tvar zploštělého rotačního elipsoidu až k tvaru oscilujícímu. Pokud mají bubliny/kapky vysokou hodnotu Bondova čísla, dochází k jejich rozpadu na bubliny/kapky menší. Bondovo číslo tedy udává míru objemu bubliny/kapky [77].

$$Bo = \frac{\Delta\rho \cdot g \cdot d^2}{\sigma}$$

3.3.6 *Elektroosmotický průtok*

Elektroosmotický průtok je pohyb kapaliny indukovaný přiloženým potenciálem na porézní materiál, kapilární trubici, membránu a další. Elektroosmotický průtok je

nejvýznamnější v malých kanálech. Jedná se o základní parametr chemických separačních technik, zejména kapilární elektroforézy. Principem kapilární elektroforézy je založen na rozdílné migrační rychlosti elektricky nabitých částic v elektrickém poli. Pohyb iontů se zvyšuje s hodnotou náboje daného iontu a klesá s jeho rostoucím hydrodynamickým poloměrem a viskozitou prostředí ^[74].

3.4 Mikrofluidika kontinuálního toku (průtoková)

Jedná se o pojmenování mikrofluidní techniky pracující s navzájem mísitelnými látkami a manipulující s kontinuálním průtokem přes mikrokanálky (Obr. 7). Proud kapaliny je možné ovládat externími tlakovými zdroji, vnějšími mechanickými pumpami nebo kombinací kapilárních sil a elektrokinetických mechanismů. Tento typ mikrofluidního systému je vhodný pro dobře definované a jednoduché biochemické aplikace, pro konkrétní úkoly (např. chemické syntézy), ale jsou méně vhodné pro úkoly vyžadující vysoký stupeň flexibility a manipulace s tekutinou. Dalším problémem je nerovnoměrný průtok kapaliny kanálkem. Jelikož je kapalina tlačena kanálkem hydraulickým tlakem, nejvyšší rychlost má kapalina ve středu a postupně ke stěnám kapilár se snižuje. To vede k parabolickému profilu kapaliny v kanálku. Monitorování procesů v systémech s kontinuálním průtokem je možno dosáhnout pomocí vysoce citlivých mikrofluidních průtokoměrů založených na MEMS technologii ^[74].



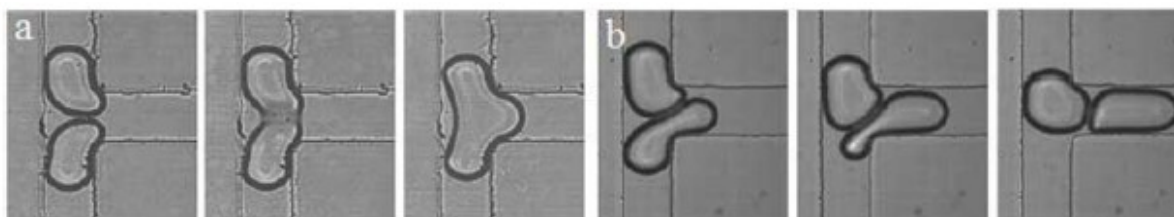
Obr. 7: Mikrofluidní čip s kontinuálním tokem ^[78]

3.5 Kapková mikrofluidika

Při kapkové mikrofluidice (také mikrofluidika kapek, nebo angl. drop-let) jsou využívány tekutiny nemísitelných fází. Nejčastěji používanými nemísitelnými kapalinami bývá

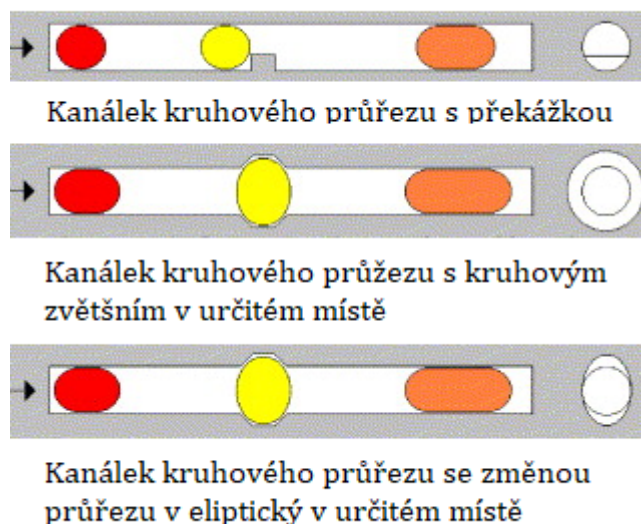
olej a vodný roztok. Jejich mísením vzniká emulze, přičemž jedna působí jako nosná kapalina a druhá je zde ve formě kapiček unášených proudem. Jak již bylo zmíněno, důležitým faktorem je povrch kanálků. Pokud je povrch kanálků hydrofobní, pak je olej nosnou fází pro kapičky vodného roztoku. Pokud je povrch kanálků hydrofilní, je nosnou fází naopak vodný roztok pro kapičky oleje. Pomocí kapičkového mikrofluidního zařízení je možné tvořit uniformní kapičky, přesně kontrolovat jejich velikost a monodisperzitu. Mikrokapičky umožňují manipulaci s miniaturními objemy kapalin, kdy každá jednotlivá kapička funguje jako oddělený prostor – mikroreaktor. Mikroreaktory poskytují lepší mísení, zapouzdření, třídění a snímání procesu. Umožňují účinně zvýšit rozsah analýzy, citlivost a zároveň díky rychlému generování kapiček je celkový průběh analýz a operací časově pohodlnější a méně náročný [74, 79, 80].

Při průtoku kanálkem se tekutina v kapičce přesouvá od středu ke stěnám a do přední části kapičky, odkud se vrací zpět do středu. Samozřejmě celému mísení napomáhá geometrie kanálku. Občas může dojít k tomu, že se látky v jedné kapičce nesmísí a zůstanou jako oddělené složky (Obr. 8). Toto závisí na fyzikálních parametrech, jako je viskozita, rychlost kapaliny, geometrie kanálku a povrchové napětí [74, 79, 80].



Obr. 8: (a) správné mísení kapiček v bodě spoje dvou kanálků, (b) nesmísení dvou tekutin v bodě spoje dvou kanálků [79]

Aby se tomuto předcházelo, bylo vyvinuto několik způsobů, jak kapičky spojit. Většinou se jedná o překážku v kanálku, ta jednu kapičku zpomalí a po nárazu druhé kapičky dojde ke spojení. Nově vzniklá velká kapička je pak schopná přejít přes překážku s menším odporem. Na druhou stranu je možné použít lokální rozšíření kanálku, kdy opět dojde ke zpomalení jedné kapičky a srážkou ke spojení s kapičkou následující. Poslední užívanou možností je splynutí kapiček v místě spojení dvou kanálků [74, 79, 80] (Obr. 9).



Obr. 9: Schématické znázornění možností spojování kapiček [převzato a upraveno z 80]

Mikrofluidní kapičky jsou velkým přínosem pro molekulární detekci. Jsou schopny nahradit stávající velké těžkopádné přístroje a nezatěžují tak prostory laboratoří a snižují finanční náklady na chod analýz. Kapičkové mikrofluidní systémy jsou používány na analytické detekce jako například obrazové analýzy, laserovou molekulární spektrometrii a další [74, 79].

4. Mikrofluidní zařízení

Mikrofluidika nachází aplikace zejména v chemii, biologii a biochemii. K těmto patří především analýza vzorků a to na úrovni až jednotlivých částic, molekul a buněk či precizní syntéza látek. Byla sestrojena jednotlivá zařízení o velikosti několika centimetrů, různých tvarů a z různých materiálů, která využívají proudění kapalin v mikrofluidních kanálcích. Jedná se o mikrofluidní čipy, μ TAS (Micro Total Analysis Systems) a Lab-on-a-Chip. Mimo samotné kanálky jsou tvořeny různými dalšími komponenty (například pumpami, mixéry, uzávěry, atd.) v závislosti na tom, k jakému účelu mají být použity ^[37].

4.1. Mikrofluidní čip

Mikrofluidní čip může nabývat různých tvarů a uspořádání od jednoduchých kanálků až po vysoce komplexní síť s mnoha komponenty. Podle požadavků na aplikace se dále volí i materiál, ze kterého je čip vyhotoven. Mezi metody výroby čipu se řadí především laserová ablace či 3D tisk ^[81].

4.1.1. Struktura kanálků

Manipulace s tekutinou probíhá v kanálcích o rozměrech 5 – 500 μm . Nejčastějším tvarem průřezu kanálku je kruhový nebo obdélníkový, avšak existují i čtvercové či lichoběžníkové průřezy. Každý typ má své parametry a výrazně odlišné vlastnosti průtoku kapaliny. Velmi důležitým parametrem je i tvar kanálku. Ten je navržen tak, aby v něm docházelo k pasivnímu míchání. Základním principem je rozdělení toku do dalších dvou toků. Tím se zvětší jejich kontaktní plocha a sníží délka difúze. Zároveň se v ohybech vytvoří rotující proud, který pomáhá při promíchání. Příkladem jsou kanálky do tvaru písmene T a Y, paralelní či sekvenční laminace nebo případně vícefázová mikrofluidika v kapičkové mísičce ^[82, 83].

4.1.2. Materiál pro výrobu mikrofluidního čipu

Ve výběru materiálu pro výrobu mikrofluidního čipu hraje roli celá řada faktorů. Mezi ty nejvýznamnější patří cena, náročnost zpracování a trvanlivost. Nicméně s ohledem na konkrétní využití čipu, zejména u těch, které mají sloužit jako fyziologicky relevantní modely,

může být důležitá například i smáčivost povrchu, pružnost, průhlednost, toxicita či prostupnost materiálu pro určité typy molekul [81].

4.1.2.1. Sklo a křemík

Vůbec první čipy byly vyráběny ze skla a křemíku (Obr. 10). Jak již bylo zmíněno, z historického hlediska to byly materiály již dobře známé a osvědčené v praxi a provozu. Nespornou výhodou těchto materiálů je vysoká chemická a tepelná stabilita, inertnost, pevnost a v případě skla také transparentnost a možnost recyklace [74, 84]. Některé vybrané vlastnosti obou materiálů používaných pro výrobu mikrofluidních čipů jsou zaznamenány v tabulkách 4 pro sklo a 5 pro křemík.



Obr. 10: Příklad skleněného mikrofluidního čipu [85]

Výroba křemíkového čipu se uskutečňovala buď leptáním kyselinou fluorovodíkovou případně kyselinou dusičnou. Leptání kanálků probíhalo přes masku s požadovaným tvarem, následně byla křemíková destička s vyleptanými kanálky spojena s destičkou skleněnou a za vysokých teplot a působení elektrického proudu byly kanálky uzavřeny. Podobný postup byl aplikován i v případě výroby čipů skleněných. Nevýhodou těchto materiálů byly vysoké náklady a složitost mikroobrábění. První experimenty na mikrofluidních čipech se zaměřovaly na elektroforetické jevy. Ačkoliv sklo a křemík mají velmi dobré vlastnosti, ukázalo se, že jsou nedostatečnými materiály pro rychle expandující potřeby mikrofluidiky [74, 84].

Tabulka 4: Charakteristické vlastnosti pro sklo užívané k výrobě mikrofluidních zařízení^[74]

Fyzikální vlastnosti	Jednotka	Ve spojení s křemíkem	Borosilikátové sklo (B33)	Fotosenzitivní sklo
Mximální pracovní teplota	(°C)	1100	450	$450 \leq T_g \leq 465$
Střední tepelná roztažnost α (20 - 300 °C)	(10^{-6} K)	0,55	$3,25 \cdot 10^{-6}$	$8,4 \leq \alpha \leq 10,6$
Hustota ρ (25 °C)	(g/cm ³)	2,2	2,2	$2,34 \leq \rho \leq 2,37$
Youngův modul	(kN/mm ²)	66	64	$74 \leq E \leq 81$
Pevnost v ohybu σ	(MPa)	50	25	25

Tabulka 5: Charakteristické vlastnosti pro křemík užívaný k výrobě mikrofluidních zařízení^[74]

Fyzikální vlastnosti	Jednotka	Křemík
Střední tepelná roztažnost α (20 - 300 °C)	(10^{-6} K)	2,6
Hustota ρ (25 °C)	(g/cm ³)	2329
Youngův modul	(GPa)	130 – 188
Pevnost v ohybu σ	(MPa)	6000

4.1.2.2. *Polymery a elastomery*

Výroba mikrofluidních čipů z polymerů začala o několik let později, jako alternativní náhrada za křemíkové a skleněné čipy. Ve srovnání s anorganickými materiály jsou polymery velmi flexibilní, snadno dostupné a cenově výhodné. Umožňují také mnoho modifikací, tak aby mikrofluidní čip měl ideální vlastnosti. Stávají se tak nejpoužívanějším materiálem pro jejich výrobu. Podle fyzikálních vlastností lze polymery klasifikovat do tří skupin – elastomery, termosety a termoplasty. V současné době je nejvíce používaným materiálem pro výrobu čipů elastomer polydimetylsiloxan (PDMS), což je silikon původně užívaný ve vlasové kosmetice. Velkou výhodou tohoto materiálu je jednoduchá a levná výroba, vysoká elasticita a chemická inertnost, průhlednost a je netoxický. Díky pórovité struktuře je hojně využíván pro biochemické a biologické aplikace. Nevýhodou PDMS je, že může způsobovat změnu koncentrace roztoků díky vypařování vody skrze stěny kanálků. Další problém tvoří reaktivita s některými organickými rozpouštědly^[86].

Výroba z polymerů (polystyren, PDMS, pryskyřice, želatina, polymethylakrylát, apod.) není nikterak komplikovaná. Vytváření spojů probíhá v rozmezí teplot od 40 do 60 °C za

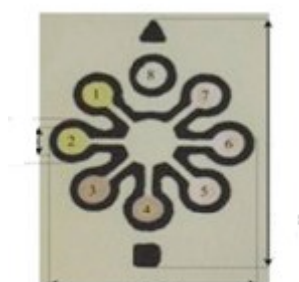
pomoci měkké litografie. Je zde možná i modifikace povrchu kanálků k větší smáčivosti, ačkoliv je PDMS hydrofobní materiál [86].

4.1.2.3. *Hydrogel*

U hydrogelů se využívá vysoce porézního charakteru materiálu, tvořeného hydrofilními polymerními řetězci. Takovýto materiál může obsahovat až 99% vody. Hydrogely jsou vhodným materiálem pro vytvoření podmínek pro dlouhodobé studie chování živočišných buněk [86].

4.1.2.4. *Papír*

Papírová mikrofluidní zařízení jsou výhodná, díky své ceně, možnosti snadné likvidace (což je přínosem při práci s potenciálně infekčním či biologickým materiálem) a také pro rychlou detekci v prostředí se zhoršenými podmínkami, jako jsou terénní laboratoře nebo méně vybavené laboratoře v rozvojových zemích [87].



Obr. 11: Mikrofluidní zařízení z papíru pro testování vzorků [87]

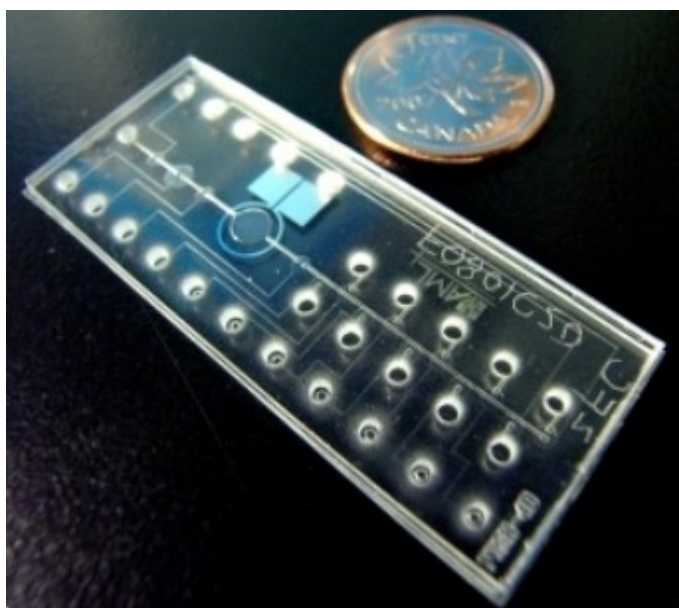
4.2. μ TAS (Micro Total Analysis System)

Jedná se o integrovaný a miniaturizovaný analytický systém, který automatizuje a zahrnuje všechny nezbytné kroky pro chemickou analýzu vzorků, jako je odběr a transport vzorků, filtrace, ředění, chemické reakce, separace a detekce. Takový systém zmenší celou laboratoř na laboratoř o velikosti čipu. Vzhledem ke své velmi malé velikosti může být takový systém umístěn v blízkosti místa odběru. Výroba tohoto čipu je velice finančně efektivní v porovnání s běžnými metodami. Rovněž snižuje spotřebu vzorku a činidla, což je velkým přínosem při manipulaci s chemicky nebezpečnými chemikáliemi nebo biologickými vzorky.

Další výhodou této technologie je to, že diagnostické soupravy na místě použití, které nevyžadují kvalifikované techniky během epidemických událostí, a tak pomáhají zachránit miliony životů. Nevýhodou je mezní objem smíšených kapalin a možnost kontaminace vzorků což je kritické pro analýzy s vysokou citlivostí [88].

4.3. Lab-on-a-Chip

Jedná se o sadu mikrokánálek, které jsou vyleptány nebo tvarovány do určité formy (Obr. 12). Aby bylo dosaženo požadovaných vlastností, jsou kanálky kombinovány s jinými zařízeními pro míchání, čerpání třídění či biochemickou kontrolu. Díky jinému počtu vstupních a výstupních otvorů je umožněno použití kanálků o různém průměru. Typické rozmezí velikostí kanálků je 5 – 500 μm . Prostřednictvím těchto otvorů jsou tekutiny vstřikovány nebo odebírány (trubičkou nebo injekční pumpou) pomocí vnějších aktivních systémů (čerpadlem nebo regulátorem tlaku) případně pasivními způsoby (hydrostatickým tlakem). Toto miniaturní zařízení kombinuje jednu a více analýz obvykle prováděných v laboratoři. Jedná se tedy o integraci a automatizaci laboratorních metod s vysokým rozlišením, jako jsou analýzy chemikálií nebo syntézy. Největší předností je nízká cena, za kterou je možnost provádět velký počet testů a analýz na jediném zařízení [89].



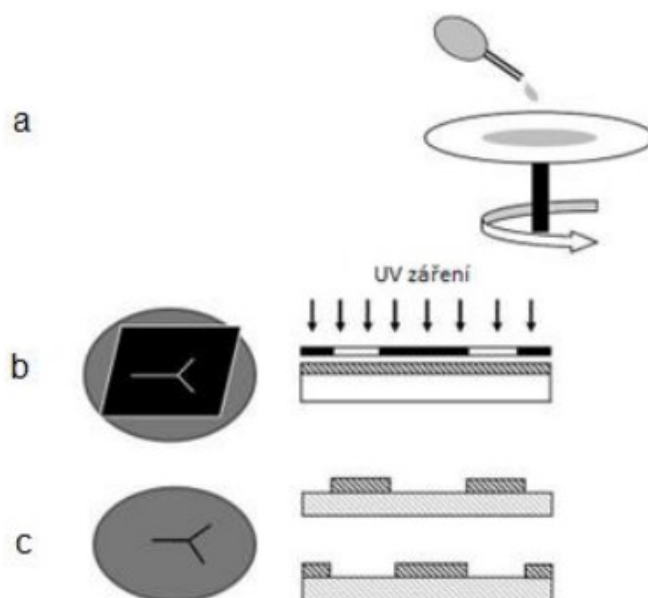
Obr. 12: Lab-on-a-Chip [89]

4.4. Metody výroby

Výroba mikrofluidních zařízení je v současnosti prováděna mnoha metodami, jako například odpařování materiálu laserem, mikroobrábění polymerů pomocí laseru, fotolitografie, optická litografie, lehká litografie, ražení za tepla, vstřikování či 3D tisk.

4.4.1. Fotolitografie

Fotolitografie je technologie využívající UV světlo působící na podložku z fotoreaktivního materiálu. Tento materiál prochází chemickou reakcí mezi kapalným a pevným stavem. Pro přenos vzoru na podložku se využívá vrstvička fotocitlivé látky – fotorezistu (1 – 500 μm), nanesené na povrchu nepolymerního pevného podkladu (sklo nebo křemík). Nejdříve se mírným zahřátím vypaří rozpouštědla a poté se pomocí UV záření skrz masku ze skla nebo křemíku vytváří požadovaný vzor. Následně se z fotorezistu odstraní vrstva chemickou lázní, buď ta, která byla vystavena UV záření nebo naopak stíněna. Tím můžeme získat buď pozitiv stínící masky anebo negativ masky (Obr. 13). Negativy jsou často používány dále v měkké litografii. Výhodou fotolitografie je především vysoká přesnost vzoru. Avšak je limitovaná nižší kvalitou těsnění, chemickou stálostí povrchu a absencí jiných materiálů, kvůli nutnosti použít fotoreaktivní materiál ^[90].



Obr. 13: (a) rozprostření fotoreaktivního materiálu po povrchu ze skla nebo křemíku pomocí spin coateru, (b) působení UV zářením na fotorezist přes masku, (c) výsledný pozitiv nebo negativ ^[90]

4.4.2. Mikroopracování laserem

Další možností je mikroopracování laserem. Principem je porušení vazeb v polymerní molekule pomocí laserových pulsů a odstraňování úlomků rozložených polymerů. Je tedy možné dosáhnout tloušťky a hloubky kanálků v řádech 0,1 až 5 μm v závislosti na materiálu a intenzitě pulsu. Tato metoda je velice výhodná z hlediska velmi krátké doby výroby. Naopak negativním je především vysoká cena ^[91].

4.4.3. Metoda 3D tisku

Relativně novodobou a moderní metodou, jak vyrobit mikrofluidní čip je 3D tisk. 3D tisk vyvinutý na počátku 80. let funguje na principu přeměny předmětu designovaného v počítači na fyzický objekt v jediném procesu. Jedná se o metodu postupného vrstvení materiálu do požadovaného tvaru. Díky schopnosti tisku objektů od domů po mikrometrové součástky, začíná 3D tisk nahrazovat v určitých procesech litografické metody. Díky vysoké přesnosti je možnost tisknout struktury o velikostech od 160 nm do velikosti několika milimetrů ^[80].

5. Experimentální část

Cílem experimentální části bylo provést pokusy biosyntézy zlatých a stříbrných nanočástic pomocí klasické vsádkové (batch) metody a mikrofluidních čipů s různou geometrií kanálků a při aplikaci různých průtokových rychlostí. Pokusy byly realizovány ve spolupráci s katedrou chemie, FMT, VŠB-TUO (kapková mikrofluidika pro biosyntézu nanostříbra a 3D tisk čipů) a na mikrofluidní aparatuře CNT, VŠB-TUO (mikrofluidní biosyntéza nanozlata). Výsledky jednotlivých experimentů potvrdily vliv průtočné syntézy na vlastnosti (velikost a tvar) výsledných nanočástic v porovnání se vsádkovou syntézou. Vybrané rostlinné biomasy byly: i) *Picea abies* – tato rostlinná biomasa byla v rámci dříve obhájené bakalářské práce studována pro vsádkovou biosyntézu nanozlata a ii) *Tilia cordata*, se kterou je realizována biosyntéza nanočástic stříbra i zlata na CNT již dlouhodobě a v současnosti je řešen především mechanismu bioredukce pomocí obsahových látek z této biomasy. Navazující experimenty mají v obou případech a u obou sledovaných kovů podat informace o tom, zda mikrofluidní fytosyntézou lze biotechnologický proces lépe řídit a dosáhnout lepších parametrů nanočástic oproti vsádkové syntéze.

5.1. Příprava rostlinných výluhů a vsádková fytosyntéza nanočástic zlata a stříbra

Postup přípravy výluhu z *Picea abies* byl následovný: smrkové jehličí bylo nejprve důkladně promyto demineralizovanou (DEMI) vodou a sušeno v sušičce na 50 °C. Takto připravená biomasa byla rozmělněna ve třecí misce a smíchána v kádince v poměru 50 ml DEMI vody zahřáté na 80 °C na 1 gram jehličí. Po 5 minutách byla směs přefiltrována přes membránový filtr PRAGOPOR 6 (0,4 µm) a z důvodů odstranění i posledních zbytků biomasy byl výluh ještě filtrován přes mikrofiltr (0,2 µm). Následně byla odebrána 1/3 smrkového výluhu a tato byla naředěna DEMI vodou v poměru 1:1. Byly takto připraveny dva různě koncentrované výluhy. Pro lepší orientaci bude původní výluh (tedy koncentrovaný) označován indexem „konc.“ a ředěný výluh bude označován indexem „ředěn.“.

Postup přípravy výluhu z *Tilia cordata* byl následovný: obsah čajového sáčku byl vyjmut. Následně byl navážen 1 g lipového čaje, který byl smíchán s 50 ml DEMI vody zahřáté na 80 °C. Po 5 minutách byla směs přefiltrována přes membránový filtr PRAGOPOR 6 (0,4 µm).

Nanočástice obou kovů byly připraveny smícháním jejich prekurzorů s příslušnými vodnými extrakty. Prekurzor zlata měl koncentraci 1mM a byl připravován z $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (s). Prekurzor stříbra byl 5mM a byl připravován z AgNO_3 (s). Pro vsádkovou syntézu zlata bylo pipetováno 7,5 ml výluhu *Picea abies* (konc.) a 7,5 ml 1 mM roztoku HAuCl_4 do zkumavky označené jako Au_V. Pro vsádkovou syntézu stříbra bylo pipetováno 7,5 ml výluhu *Tilia cordata* a 7,5 ml 5 mM roztoku AgNO_3 do zkumavky označené jako Ag_V.

5.2. Použité analytické metody pro vyhodnocení experimentů fyto-syntézy

Hlavní analytickou metodou, na základě které byly vyhodnoceny vlastnosti připravených nanočástic a v podstatě úspěšnost biosyntéz na čipu, byla zobrazovací metoda, a to elektronová mikroskopie. Připravené nanočástice stříbra a zlata byly charakterizovány skenovacím transmisním elektronovým mikroskopem (STEM) JEOL JSM-7610F Plus (JEOL Ltd., Tokio, Japonsko) vybaveným detektorem na průchod (transmisi) elektronů (Deben UK Ltd., Woolpit, Velká Británie) při urychlovacím napětí 30 keV na pracovišti Centra Nanotechnologií VŠB-TU Ostrava. Pomocí programu JMicroVision 1. 2. 7. byla měřena velikost syntetizovaných zlatých nanočástic, kde průměrná hodnota byla počítána z více než 300 částic, které bylo možno definovat jako izolované. Software nebylo možné použít v případě agregovaných nanočástic stříbra.

5.3. 3D tisk a geometrie použitých čipů

Pomocí metody 3D tisku byly vytvořeny čipy použité pro biosyntézu nanočástic zlata a stříbra. Všechny čipy byly vytisknuty z co-polyesteru (CPE). Tento materiál je pevný, odolný proti chemickým vlivům a průhledný, což umožňuje sledování dění v kanálcích. Kanálky byly vytisknuty o čtvercovém průměru 1x1 mm. Tyto čipy jsou umístěny do mikrofluidní aparatury (Obr. 14)

V mikrofluidním čipu typ 1 jsou 2 vstupy pro reaktanty a jeden výstup. Meandry jsou jednoduché se zatočením (Obr. 15 a). K mísení dochází v místě, kde se kanálky scházejí ve tvaru písmene Y.

Meandry v mikrofluidním čipu typ 2 jsou tzv. zig-zag. Tento tvar má lepší vliv na reakční kinetiku tekutiny proudící kanálkem a dochází k lepšímu mísení složek než u mikrofluidního čipu typ 1. Do kanálků vedou 2 vstupy a jeden výstup (Obr. 15 b).

V mikrofluidním čipu typ 3 jsou 3D zig-zag meandry následované jednoduchými zatočenými meandry. Mikrofluidní čip typ 3 má 2 otvory pro vstup reaktantů a jeden pro výstup (Obr. 15 c).

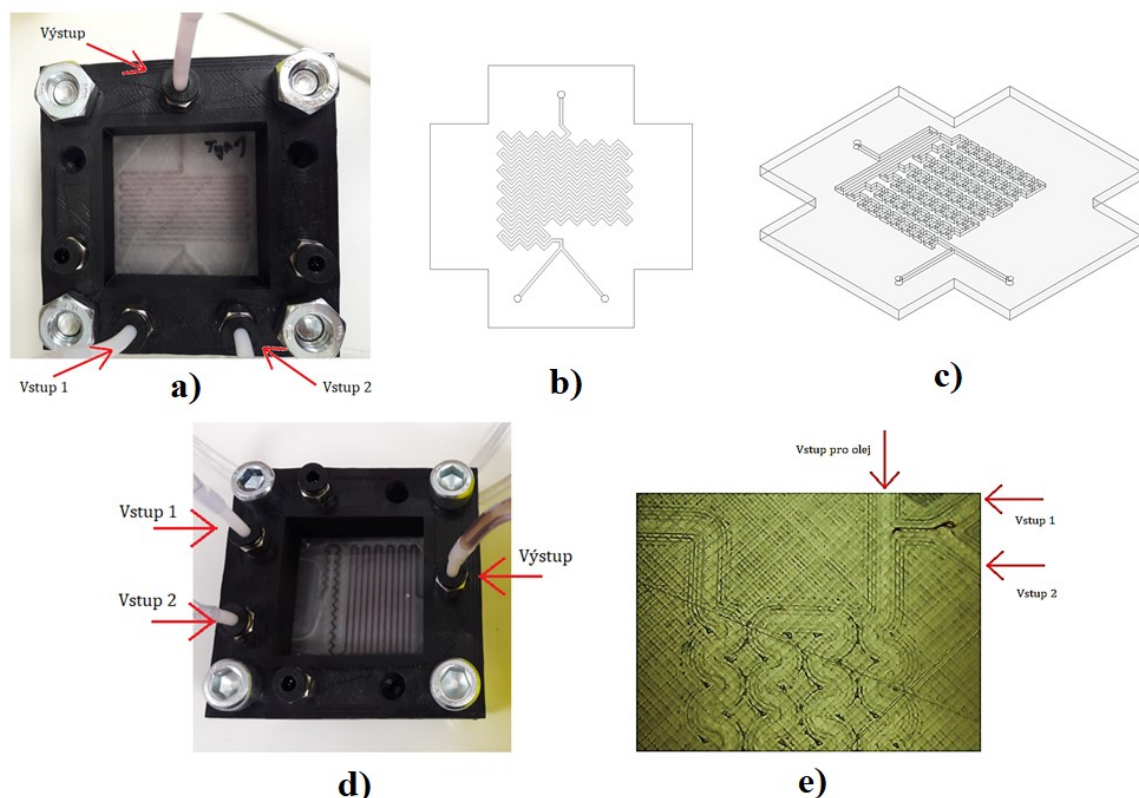
Mikrofluidní čip typ 4 má dva vstupy pro reaktanty a jeden výstup. Pro lepší kinetiku v kanálcích čipu a promíchání reaktantů, by začátek meandru ve tvaru zig-zag, a pak pokračoval jako standardní jednoduchý zatočený meandr. Jedná se o kombinaci meandrů z čipu typ 1 a typ 2 (Obr. 15 d).

Jediným mikrofluidním čipem určeným pro kapkovou mikrofluidiku byl čip typ 5 se třemi vstupy a jedním výstupem. Reaktanty se v tomto čipu setkávaly v kanálku tvaru Y, následně proudily do oleje na rozhraní kanálků ve tvaru T. Následovaly meandry esovitého tvaru a v polovině čipu již pokračovaly jako běžné zatočené meandry (Obr. 15 e).

Před a po každém měření je nutné propláchnout kanálky, hadičky pro vstup i výstup. Dochází zde totiž ke ztrátám vzorku v takzvaném mrtvém objemu, kde kapalina neprojde celým čipem, ale po ukončení syntézy zůstává v aparatuře. Tyto zbytky pak mohou navíc zkreslovat následná měření a kontaminovat další vzorky, tudíž je nutné se tomuto vyvarovat.



Obr. 14: Mikrofluidní aparatura



Obr. 15: Znázornění geometrie meandrů jednotlivých mikrofluidních čipů, a) typ 1 – reálný stav po reakci, b) typ 2 - náčrtek, c) typ 3 - náčrtek, d) typ 4 – reálný stav po reakci, e) typ 5 – záznam z „in-situ“ sledování průtočného procesu

5.4. Mikrofluidní syntéza nanočástic zlata

Pro syntézu zlatých nanočástic byly použity 2 mikrofluidní čipy s rozdílnou geometrií meandrů. První byl použit mikrofluidní čip typ 1. Do 20 ml stříkaček byl natažen výluh z *Picea abies* (konc.) a 1 mM roztok HAuCl_4 . Poté byly stříkačky umístěny do aparatury. Následně byly zvoleny průtokové rychlosti. Pro vzorek Au1_15 byla nastavena průtoková rychlost 15 ml/hod. Vzorek byl jímán do zkumavky a současně byl připraven vzorek na síťku pro STEM analýzu. Kapka vzorku byla na síťce ponechána 5 minut a přebytečná kapalina byla následně odsáta. Analogicky byly připraveny i vzorky Au1_30 při průtokové rychlosti 30 ml/hod a Au1_60 při průtokové rychlosti 60 ml/hod. Cílem bylo sledovat vliv rychlosti průtoku na charakter nanočástic.

Druhým použitým mikrofluidním čipem pro biosyntézu zlatých nanočástic byl mikrofluidní čip typ 4. Jako první se připravovaly vzorky se zředěným výluhem z *Picea abies*. Do první 20 ml stříkačky aparatury byl natažen výluh z *Picea abies* (ředěn.) a do druhé 20 ml

stříkačky 1 mM roztok HAuCl₄. Pro vzorek Au4_5_{ředěn} byla navolena průtoková rychlost 5 ml/hod, která byla následně zvýšena na 15 ml/hod pro vzorek Au4_15_{ředěn}. Analogicky byly připraveny i vzorky s koncentrovaným výluhem, označeny jako Au4_5_{konc.} pro průtokovou rychlost 5 ml/hod a Au4_15_{konc.} pro průtokovou rychlost 15 ml/hod. Stejným způsobem uvedeným výše byly připraveny vzorky pro charakterizaci nanočástic pomocí STEM. Tabulka 6 uvádí souhrn označení všech připravených vzorků se zlatými nanočásticemi.

Tabulka 6: Shrnutí označení všech vzorků pro zlaté nanočástice

Označení vzorku	Popis vzorku
Au_V	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí vsádkové biosyntézy za použití koncentrovaného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.
Au1_15	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 1 při průtokové rychlosti 15 ml/hod, za použití koncentrovaného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.
Au1_30	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 1 při průtokové rychlosti 30 ml/hod, za použití koncentrovaného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.
Au1_60	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 1 při průtokové rychlosti 60 ml/hod, za použití koncentrovaného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.
Au4_5_{konc.}	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 4 při průtokové rychlosti 5 ml/hod, za použití koncentrovaného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.
Au4_15_{konc.}	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 4 při průtokové rychlosti 15 ml/hod, za použití koncentrovaného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.
Au4_5_{ředěn}	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 4 při průtokové rychlosti 5 ml/hod, za použití ředěného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.
Au4_15_{ředěn}	Vzorek zlatých nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 4 při průtokové rychlosti 15 ml/hod, za použití ředěného výluhu <i>Picea abies</i> a Au prekursoru.

5.5. Mikrofluidní syntéza nanočástic stříbra

Biosyntéza stříbrných nanočástic proběhla na 3 mikrofluidních čipech, 2 z toho byly pro kontinuálně průtokovou syntézu a jeden mikrofluidní čip byl určen na kapkovou syntézu. Na mikrofluidním čipu typ 1 byly biosyntetizovány stříbrné nanočástice tak, že do 20 ml stříkačky byl nabit 5 mM roztok AgNO₃ a do druhé 20 ml stříkačky výluh z *Tilia cordata*. Obě stříkačky byly umístěny do aparatury a byly nastaveny průtokové rychlosti pro jednotlivé vzorky. Pro

první vzorek Ag1_15 byla nastavena průtoková rychlost 15 ml/hod, pro druhý vzorek Ag1_30 byla 30 ml/hodinu, pro Ag1_45 byla 45 ml/hod a pro Ag1_60 byla 60 ml/hod.

Analogicky byly připraveny i vzorky biosyntetizované na mikrofluidním čipu typ 2. Zde byly nastaveny průtokové rychlosti pro vzorek Ag2_15 na 15 ml/hod, pro vzorek Ag2_30 na 30 ml/hod a pro vzorek Ag2_60 na 60 ml/hod.

Posledním experimentálním měřením bylo použití mikrofluidního čipu typ 5 určeného pro kapkovou syntézu. Biosyntéza probíhala následovně: do velké 30 ml stříkačky byl nabrán 100 M kalibrační silikonový olej, který byl pumpován do kanálků mikrofluidního čipu. Dalšími dvěma 20 ml stříkačkami naplněnými 5 mM roztokem AgNO₃ a výluhem z *Tilia cordata*, byly do kanálků pumpovány tekutiny, které se spojily v ústí kanálků tvaru Y, a následně byly na T rozcestníku spojeny s olejovou složkou. Díky nemísitelnosti obou složek docházelo k tvorbě jednotlivých kapek. Takto byly syntetizovány vzorky Ag5_5:5:10 při průtočných rychlostech výluh z *Tilia cordata* 5 ml/hod, 5 mM roztok AgNO₃ 5 ml/hod a oleje 10 ml/hod. Analogicky pak byly připraveny i vzorky Ag5_5:5:20 při průtočných rychlostech výluh z *Tilia cordata* 5 ml/hod, 5 mM roztok AgNO₃ 5 ml/hod a oleje 20 ml/hod a Ag5_20:20:20 při průtočných rychlostech výluh z *Tilia cordata* 20 ml/hod, 5 mM roztok AgNO₃ 20 ml/hod a oleje 20 ml/hod.

Všechny vzorky byly zachytávány do skleněných zkumavek z tmavého skla, kvůli vysoké citlivosti stříbra na světelné podmínky a následně byly vzorky skladovány ve tmě v lednici při +4 °C. Vzorky byly charakterizovány STEM. Tabulka 7 uvádí shrnutí označení všech připravených vzorků se stříbrnými nanočásticemi.

Tabulka 7: Shrnutí označení všech vzorků pro stříbrné nanočástice

Označení vzorku	Popis vzorku
Ag_V	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí vsádkové biosyntézy za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag1_15	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 1 při průtokové rychlosti 15 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag1_30	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 1 při průtokové rychlosti 30 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag1_45	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 1 při průtokové rychlosti 45 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.

Pokračování tabulky 7

Ag1_60	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 1 při průtokové rychlosti 60 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag2_15	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 2 při průtokové rychlosti 15 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag2_30	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 2 při průtokové rychlosti 30 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag2_45	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 2 při průtokové rychlosti 45 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag2_60	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 2 při průtokové rychlosti 60 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag3_15	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 3 při průtokové rychlosti 15 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag3_30	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 3 při průtokové rychlosti 30 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag3_45	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 3 při průtokové rychlosti 45 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag3_60	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 3 při průtokové rychlosti 60 ml/hod, za použití výluhu <i>Tilia cordata</i> a Ag prekurzoru.
Ag5_5:5:10	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 5 kapkovou metodou při průtokové rychlosti výluhu <i>Tilia cordata</i> 5 ml/hod, Ag prekurzoru 5 ml/hod a oleje 10 ml/hod.
Ag5_5:5:20	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 5 kapkovou metodou při průtokové rychlosti výluhu <i>Tilia cordata</i> 5 ml/hod, Ag prekurzoru 5 ml/hod a oleje 20 ml/hod.
Ag5_20:20:20	Vzorek stříbrných nanočástic vytvořených pomocí mikrofluidního čipu typ 5 kapkovou metodou při průtokové rychlosti výluhu <i>Tilia cordata</i> 20 ml/hod, Ag prekurzoru 20 ml/hod a oleje 20 ml/hod.

6. Výsledky a diskuze

6.1 Výsledky pro biosyntetizované zlaté nanočástice

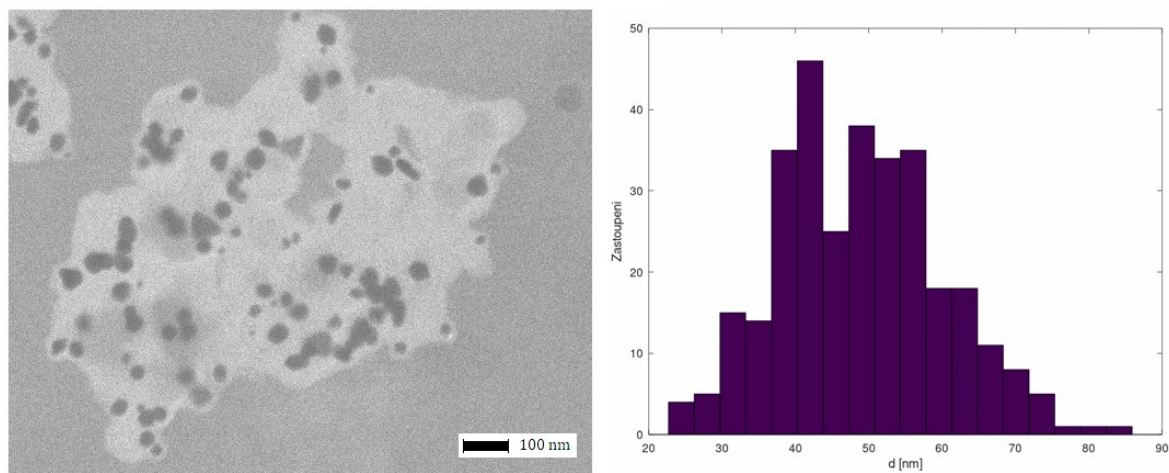
6.1.1 Vlastnosti nanočástic zlata připravených ve vsádce

K barevné změně u vzorku Au_V došlo ihned, k úplnému zbarvení došlo do minuty od smíchání výluhu z *Picea abies* (konc.) a 1 mM roztoku HAuCl_4 . Vzorek byl sytě fialový (Obr. 16), což byl první indikátor toho, že došlo k vyredukování zlatých nanočástic.



Obr. 16: Vzorek Au_V minutu po smíchání výluhu z *Picea abies* (konc.) a 1 mM roztoku HAuCl_4

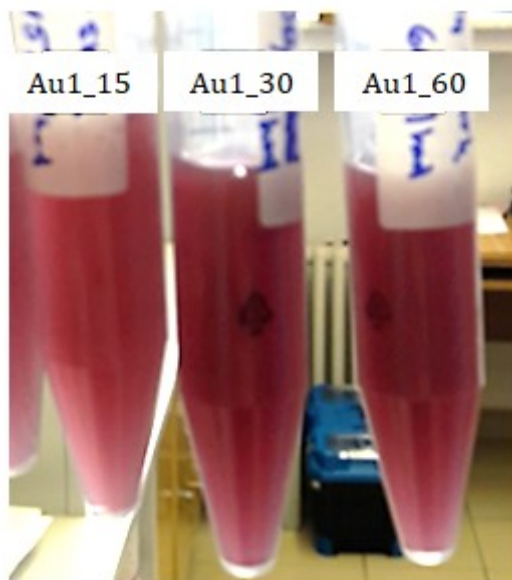
Pro charakterizaci byla použita analýza STEM a následně byly z pořízených snímků charakterizovány vlastnosti vzniklých zlatých nanočástic. Průměrná velikost zlatých nanočástic ve vzorku Au_V byla 48,95 nm. Částice byly převážně sférického tvaru, ale vyskytovaly se zde vzácně i trojúhelníkové či tyčinkovité nanočástice. Jak je znázorněno v histogramu na Obr. 17, byla distribuční křivka velice široká, což znamená velký rozptyl ve velikostech jednotlivých zlatých nanočástic ve vzorku Au_V. Na snímku jde zřetelný stabilizační světle šedý obal kolem nanočástic.



Obr. 17: Charakterizace vzorku Au_V pomocí STEM a histogram distribuce velikosti nanočástic zlata

6.1.2 Biosyntéza na mikrofluidní čipu typ 1

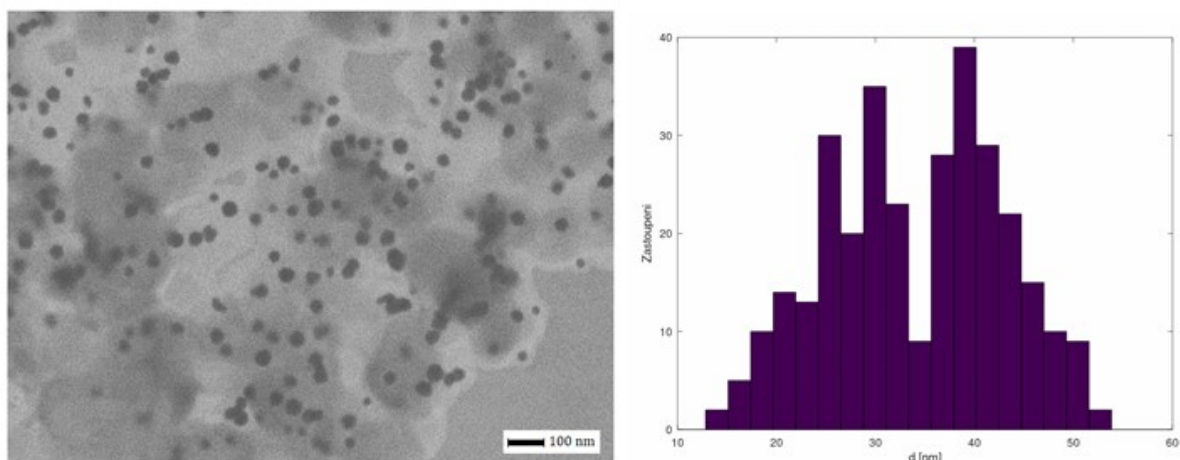
Barevná změna pro všechny vzorky biosyntetizované na mikrofluidním čipu typ 1 byla viditelná již v kanálcích čipu. Vzorek Au1_15 biosyntetizovaný při průtokové rychlosti 15 ml/hod byl světlejší než zbylé dva vzorky. Jeho barva byla světle růžovo fialová, zatím co u vzorků Au1_30 a Au1_60 si byly růžovo fialové barvy velmi podobné (Obr. 18).



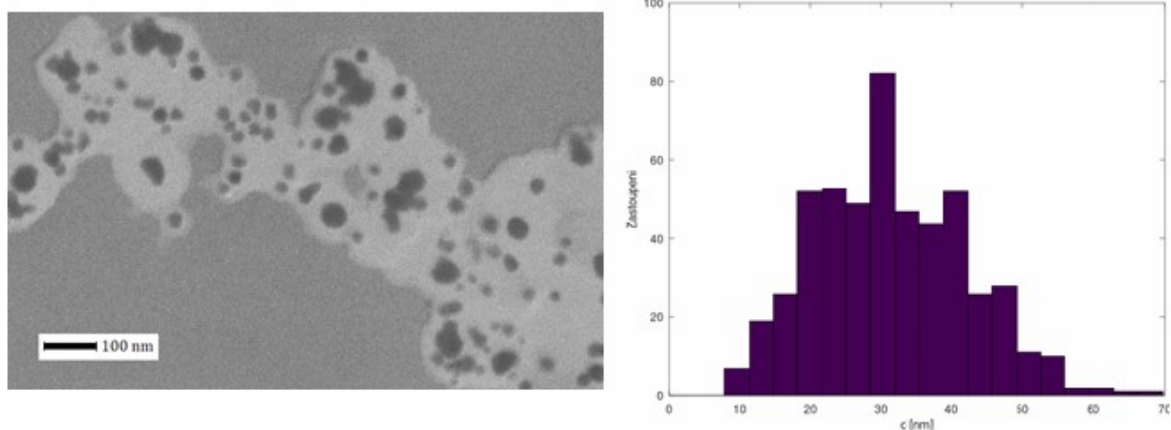
Obr. 18: Vzorky syntetizované na mikrofluidním čipu typ 1

Každý vzorek byl jednotlivě pozorován na STEM a pořízené snímky analyzovány. Ze snímků vyplývá, že částice se od vsádkové syntézy liší. Dochází k unifikaci velikostí a zmenšení zlatých nanočástic. Také ze snímků není patrné, že by se zde nacházeli tyčinkové nanočástice, jako tomu bylo u vsádkové syntézy. Zlaté nanočástice jsou sférické a zřídka se objevily i trojúhelníkové.

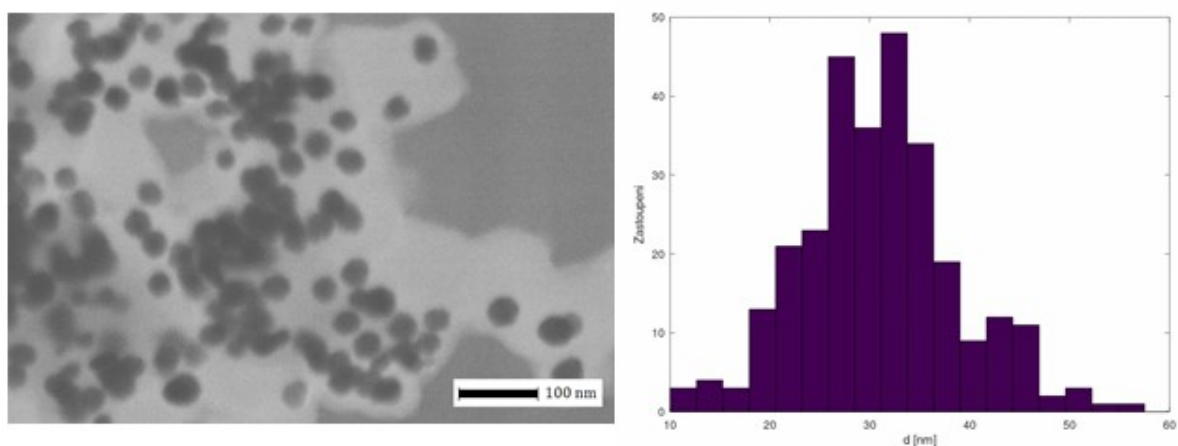
Průměrná velikost nanočástic zlata u vzorku Au1_15 byla 34,10 nm, u vzorku Au1_30 31,38 nm a u vzorku Au1_60 31,00 nm. Při průchodu mikrofluidním čipem typ 1 lze pozorovat prokazatelný účinek na zlepšení velikostní distribuce a velikostního rozptylu zlatých nanočástic. Pokud porovnáme výsledky mezi sebou, je patrné, že s čipem této geometrie dosáhneme i při různých průtokových rychlostech podobné průměrné velikosti zlatých nanočástic. Pokud se však podíváme na histogramy, je patrné, že čím nižší průtoková rychlost byla nastavena, tím se méně objevovaly částice v okrajových hodnotách histogramu (Obr. 19 – 21). Z toho se dá usoudit, že nejideálnější průtoková rychlost ze tří experimentů byla nejnižší rychlost 15 ml/hod u vzorku Au1_15. Všechny prezentované snímky představují nanočástice zobrazené ve světlém poli.



Obr. 19: Charakterizace vzorku Au1_15 pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata



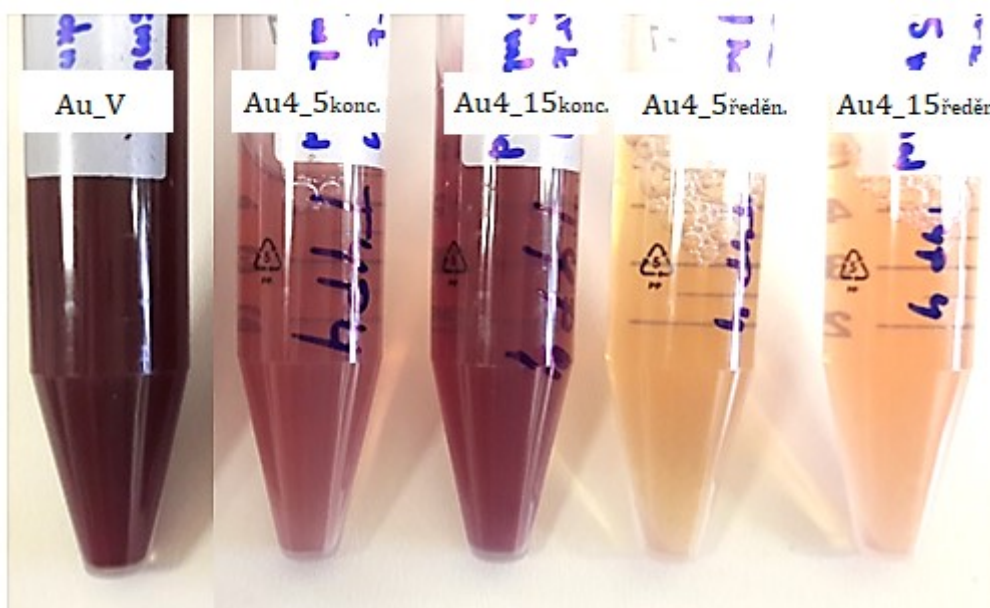
Obr. 20: Charakterizace vzorku Au1_30 pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata



Obr. 21: Charakterizace vzorku Au1_60 pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata

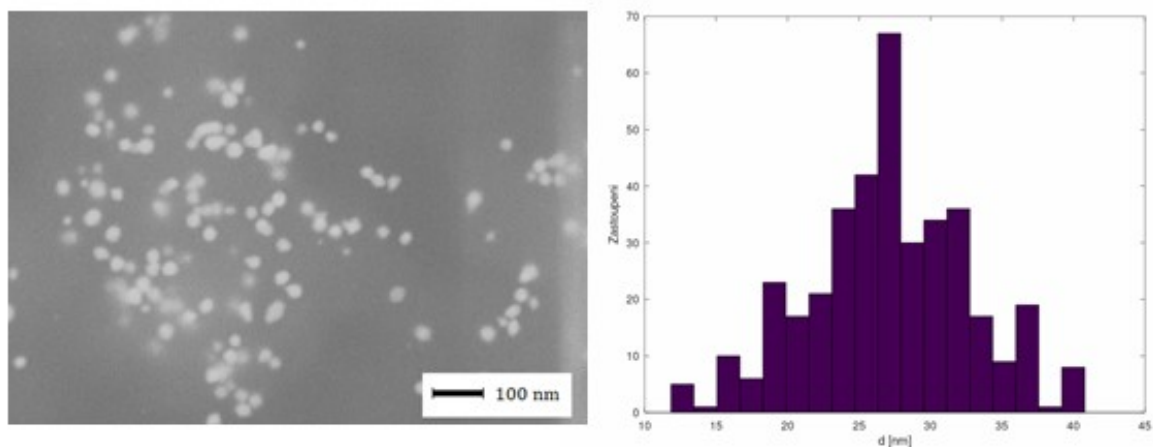
6.1.3 *Syntéza na mikrofluidním čipu typ 4*

Barevná změna pro všechny vzorky biosyntetizované na mikrofluidním čipu typ 4 byly viditelná již v kanálcích čipu. V porovnání s Au_V byly všechny vzorky světlejší (Obr. 22). U vzorků Au4_5_{konc.} a Au4_15_{konc.} byla barva roztoku světle fialová, zatím co u vzorů Au4_5_{ředn.} a Au4_15_{ředn.} byla světle žluto oranžová.

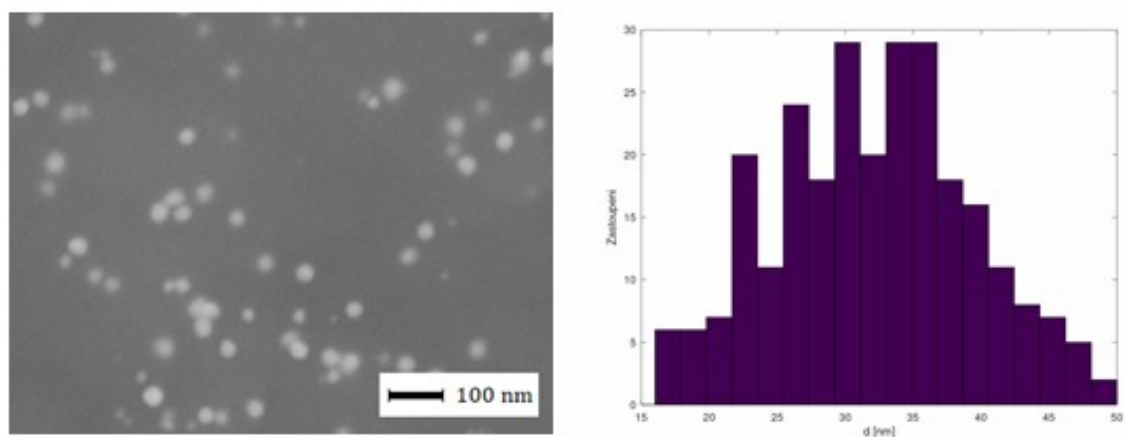


Obr. 22: Vzorky syntetizované na mikrofluidním čipu typ 4 a vzorek biosyntetizovaný vsádkovou metodou

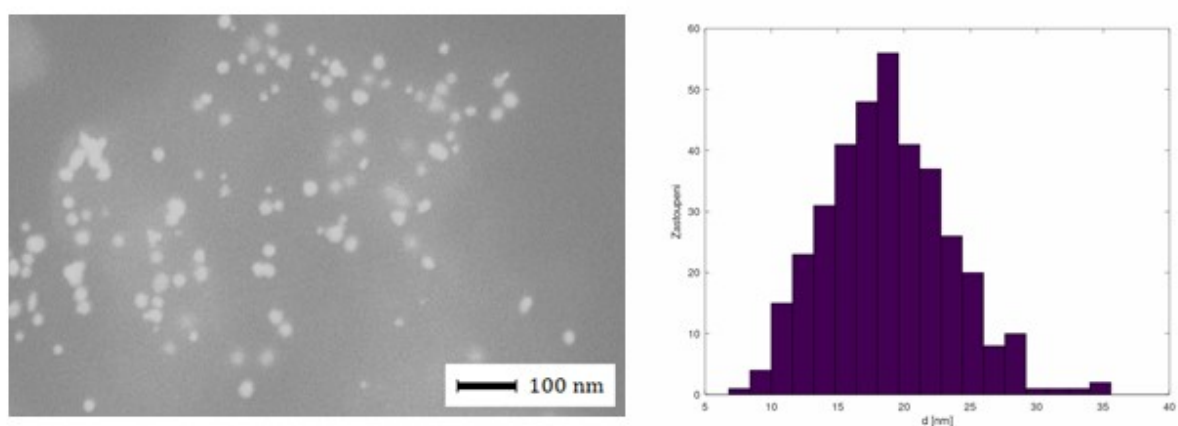
Jednotlivé vzorky byly charakterizovány pomocí STEM a následně analyzovány. Zajímavé na snímcích pro vzorky Au4_5konc. a Au4_15konc. bylo, že se zde nevyskytovaly jiné než sférické nanočástice. Pro vzorek Au4_5konc., který byl syntetizován při průtokové rychlosti 5 ml/hod byla naměřena průměrná velikost zlatých nanočástic 27,12 nm. Pro vzorek Au4_15konc., syntetizovaný při průtokové rychlosti 15 ml/hod byla průměrná velikost zlatých nanočástic 32,11 nm. Pro vzorky Au4_5ředěn. a Au4_15ředěn. byly velikosti nanočástic v porovnání se vzorky Au4_5konc. a Au4_15konc. výrazně menší, avšak tvary nanočástic byly sférické, trojúhelníkové a tyčinkové. Průměrná velikost zlatých nanočástic byla ve vzorku Au4_5ředěn. syntetizovaném při průtokové rychlosti 5 ml/hod 18,63 nm a pro vzorek Au4_15ředěn. při průtokové rychlosti 15 ml/hod 28,70 nm. Pro všechny vzorky byly sestrojeny distribuční křivky (Obr. 23 – 26). Nanočástice jsou na snímcích zobrazeny v tmavém poli.



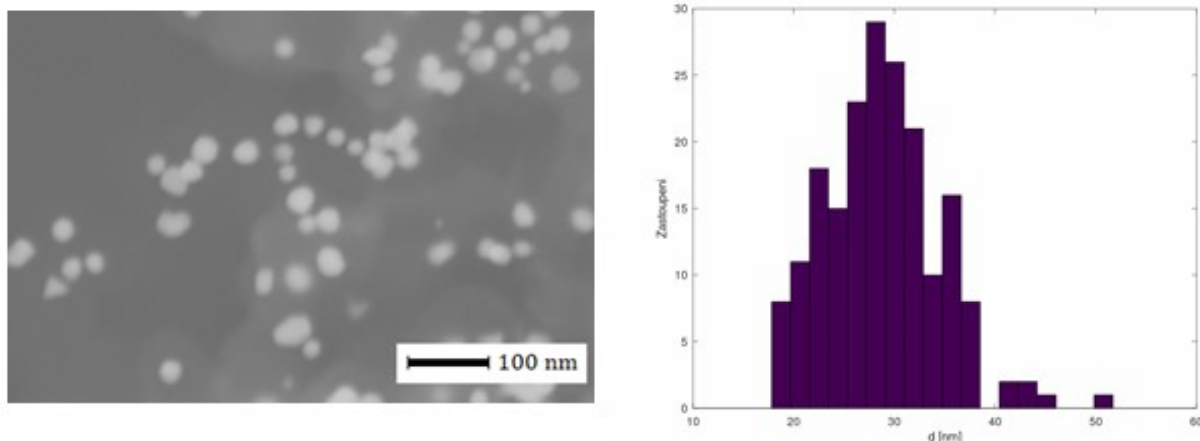
Obr. 23: Charakterizace vzorku Au4_5_{konc.} pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata



Obr. 24: Charakterizace vzorku Au4_15_{konc.} pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata



Obr. 25: Charakterizace vzorku Au4_5_{ředn.} pomocí TEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata



Obr. 26: Charakterizace vzorku Au4_15ředěn pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata

Pro lepší orientaci a možnost porovnání výsledků experimentů pro zlaté nanočástice byly výsledky zaznamenány do tabulky 8. Měřením byl dokázán vliv syntézy v mikrofluidních čípech na výslednou velikost a charakter nanočástic zlata. Také v porovnání mezi výsledky jednotlivých čipů lze vidět, že silný vliv na výsledný charakter částice má i geometrie samotných meandrů a průtoková rychlost. Je vidět, že u vysokých průtokových rychlostí se tvoří nanočástice zlata menší než při vsádkové syntéze, ale větší než při nižších průtokových rychlostech. Také lze říct, že kombinace dvou mechanismů míchání tekutin v mikrofluidním čipu je výrazně účinnější. Dochází k lepšímu promísení obou kapalin. Zajímavý byl vliv koncentrace výluhu z *Picea abies*. Při nižší koncentraci vznikaly menší nanočástice. To může být způsobeno tím, že poměr koncentrací pro obě látky byl lepší než u koncentrovaného výluhu a obsažené fytochemikálie tak kvantitativně zreagovaly s kationty zlata. Distribuční křivky vzorků Au4_5konc. a Au4_15konc. se pohybovaly v rozmezí velikostí nanočástic mezi 10 – 60 nm. Naopak distribuční křivky pro Au4_5ředěn. v rozmezí 8 – 35 nm a pro Au4_15ředěn. v rozmezí 20 – 40 nm s ojedinělým výskytem větších nanočástic zlata.

Tabulka 8: Shrnutí výsledků měření zlatých nanočástic pro všechny vzorky

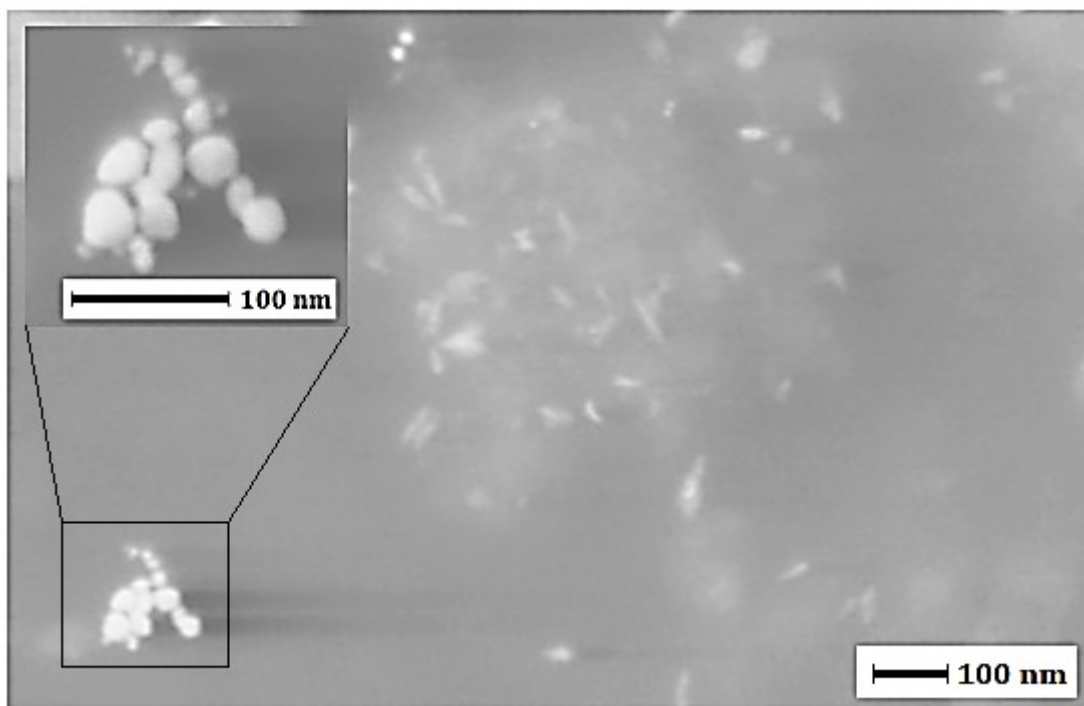
Způsob syntézy	Vzorek	Průtoková rychlost			Průměrná velikost částic	Geometrie částic
		Vstup 1	Vstup 2	Celková		
		ml/hod	ml/hod	ml/hod	Nm	
Vsádková (batch) syntéza	Au_V	-	-	-	48,95	sférické, trojúhelníkové, tyčinkové
Mikrofluidní čip typ 1	Au1_15	7,5	7,5	15	34,10	sférické, trojúhelníkové
	Au1_30	15	15	30	31,38	sférické, trojúhelníkové
	Au1_60	30	30	60	31,00	sférické, trojúhelníkové
Mikrofluidní čip typ 4 (konc)	Au4_5 _{konc.}	2,5	2,5	5	27,12	sférické
	Au4_15 _{konc.}	7,5	7,5	15	32,11	sférické
Mikrofluidní čip typ 4 (ředěn)	Au4_5 _{ředěn}	2,5	2,5	5	18,63	sférické, trojúhelníkové, tyčinkové
	Au4_15 _{ředěn}	7,5	7,5	15	28,70	sférické, trojúhelníkové, tyčinkové

6.2 Výsledky pro biosyntetizované stříbrné nanočástice

6.2.1 Vlastnosti nanočástic stříbra připravených ve vsádce

K barevné změně u vzorku Ag_V došlo po smíchání 5 mM roztok AgNO₃ a výluh z *Tilia cordata* během jednoho dne. Pro charakterizaci byla použita analýza STEM a následně byly z pořízených snímků charakterizovány vlastnosti vzniklých zlatých nanočástic.

Stříbrné nanočástice měli velikost pod 40 nm (Obr. 27) a nabývaly sférických, trojúhelníkových a tyčinkových tvarů. Nanočástice měli tendence tvořit shluky a ve větším počtu se vyskytovaly na samostatně oddělených místech.



Obr. 27: Vzorek Ag_V, stříbrné nanočástice zobrazené metodou STEM

6.2.2 Biosyntéza na mikrofluidním čipu typ 1

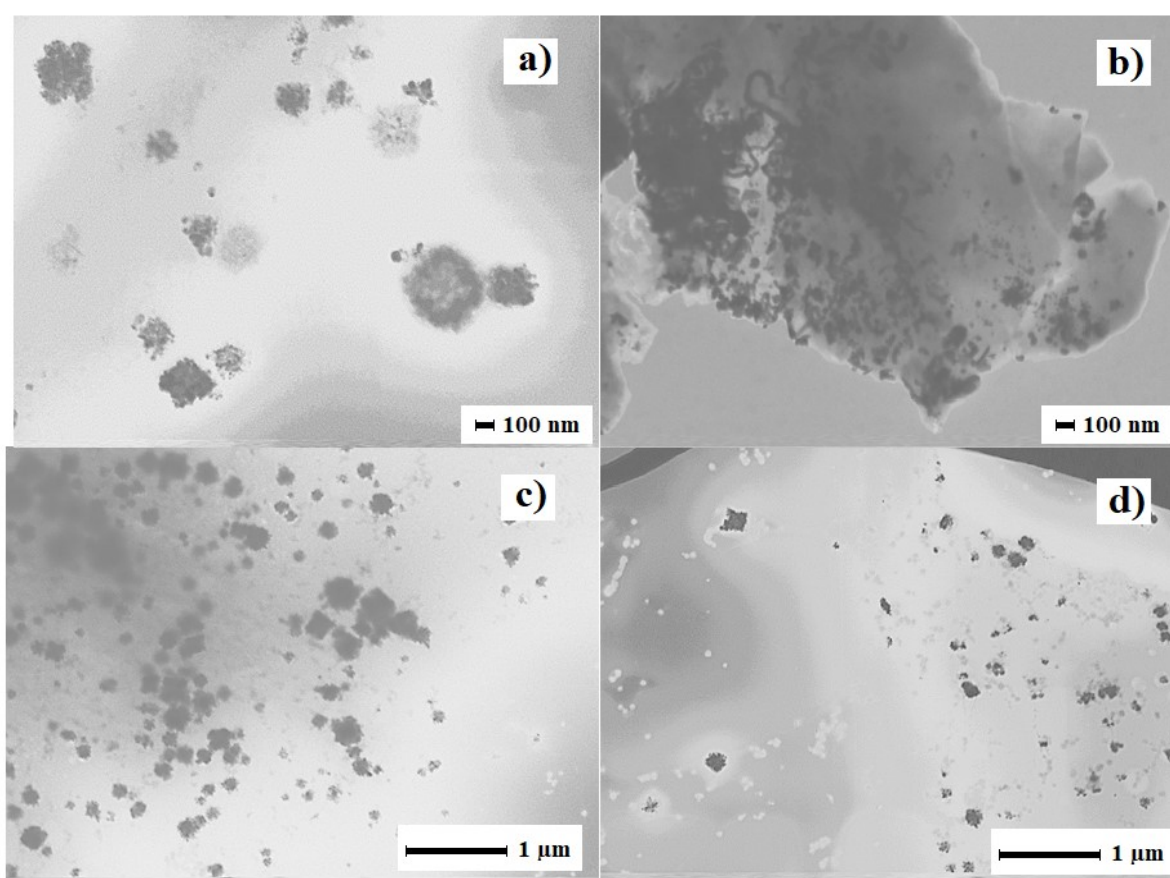
Jelikož vzorky byly analyzovány až druhého dne, není jasné, do jaké míry tato prodleva mohla ovlivnit doreagování reaktantů ve zkumavce. Jak již bylo řečeno, z důvodu vysoké reaktivity byly všechny vzorky skladovány ve zkumavkách z tmavého skla v lednici. Z tohoto důvodu nebyly pořízeny snímky změny barvy pro porovnání. Roztoky vystupující z čipu měly v podstatě barvu rostlinného výluhu, nicméně předpokládalo se, že i samotný průtočný proces měl vliv na charakter částic, přestože pak směs doreagovávala ve zkumavkách, než byly odebrány vzorky na analýzu STEM. Z tohoto důvodu byly poté provedeny testy biosyntézy olejovou kapkovou metodou.

Ve vzorku Ag1_15, který byl biosyntetizován za průtokové rychlosti 15 ml/hod, měly stříbrné nanočástice tendence k agregování a jako shluky byly obaleny fotochemikáliemi lípy. Tento obal zvyšuje stabilitu těchto nanočástic. Tyto shluky mají přes 100 nm a jsou v nich koncentrovány velmi malé sférické stříbrné nanočástice o průměrech pod 50 nm (Obr. 28).

Vzorek Ag1_30 byl charakterově velmi podobný vzorku Ag1_15. Stříbrné nanočástice výrazně agregovaly do sférických či pseudo-kubických agregátů. Ze snímku Ag1_30 jde jasně vidět, že se stříbrné nanočástice vyredukovaly buď mimo stabilizační složky rostlinného

původu, nebo v jejich bezprostřední blízkosti. Ve vzorku Ag1_45 se objevují jak agregáty sférických tvarů, tak i pseudo-kubického či kosočtvercového.

Pro tento typ čipu se neprokázal významný vliv průtokové rychlosti na výsledné nanočástice. Ve všech vzorcích stříbrné nanočástice agregovaly do velkých shluků různých velikostí. Ani tvar těchto agregátů se nijak nelišil napříč vzorky. Velikostní distribuce nebyla pro vzorky stanovena, protože jednotlivé nanočástice jsou špatně definovatelné v rámci dostupného softwaru J. Microvision.

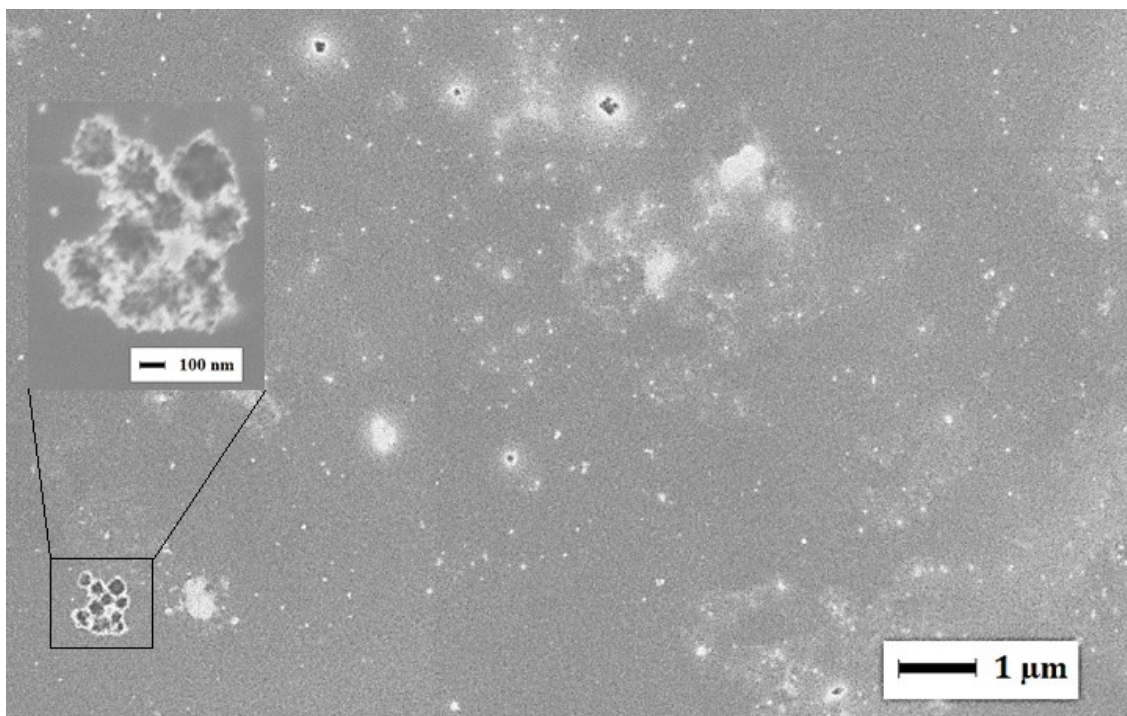


Obr. 28: STEM snímek stříbrných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 1 (a) vzorek Ag1_15, b) vzorek Ag1_30, c) vzorek Ag1_45, d) vzorek Ag1_60)

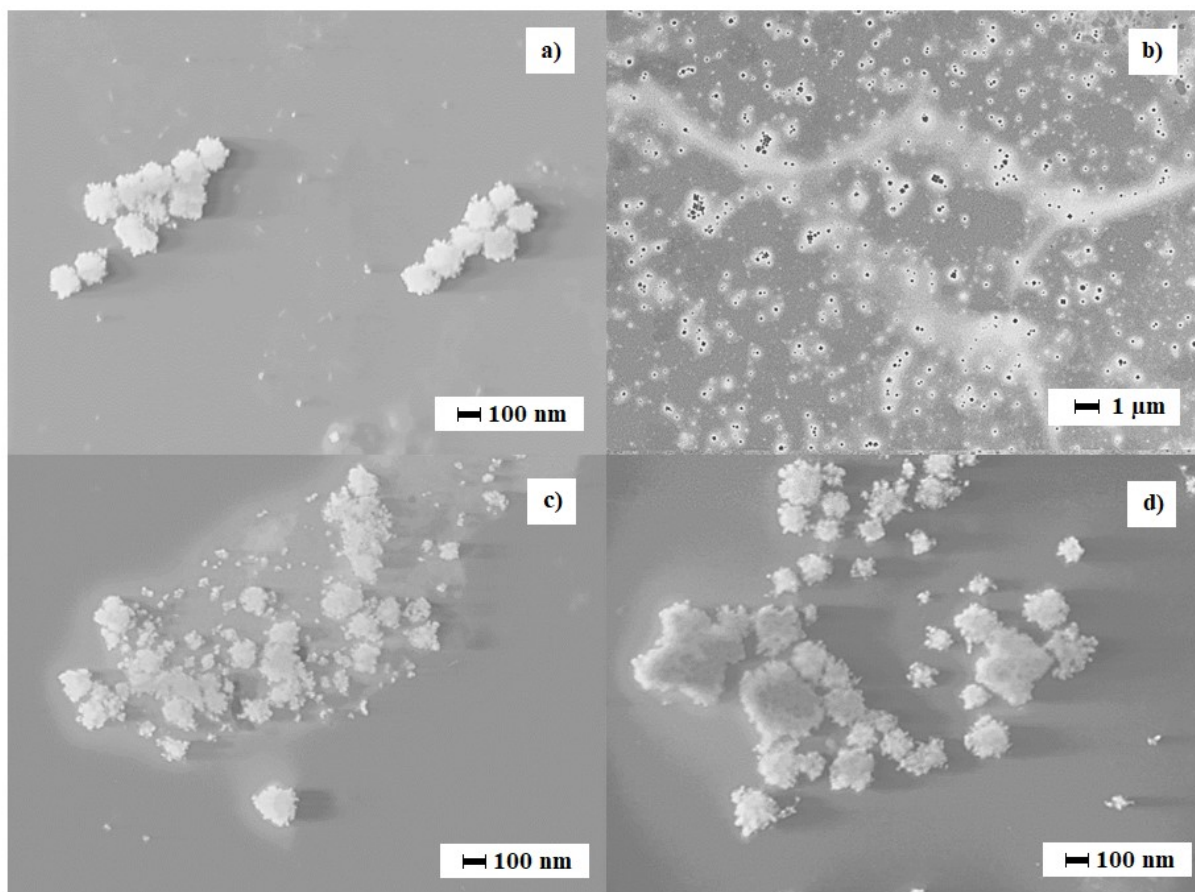
6.2.3 Biosyntéza na mikrofluidním čipu typ 2

Vzorky stříbrných nanočástic na mikrofluidním čipu typ 2 byly připravovány za průtokových rychlostí Ag2_15 při 15 ml/hod, Ag2_30 při 30 ml/hod, Ag2_45 při 45 ml/hod a Ag2_60 při 60 ml/hod.

Pomocí metody STEM byly pořízeny snímky nanočástic z jednotlivých biosyntetizovaných vzorků. Pro vzorek Ag2_15 byl pořízen snímek, který ukazuje sférické agregáty stříbrných nanočástic (Obr. 29). Světlé části v okolí agregátů mohou být fytochemikálie z lipového výluhu. I ve vzorku Ag2_30, Ag2_45 a Ag2_60 se nacházely agregáty stříbrných nanočástic (Obr. 30). Nejideálnějším vzorkem se ukázal Ag2_15, jelikož se zde nacházely shluky, které alespoň měly nejvíce sjednocenou velikost v porovnání s ostatními vzorky.



Obr. 29: Snímek pořízený metodou STEM pro vzorek Ag2_15

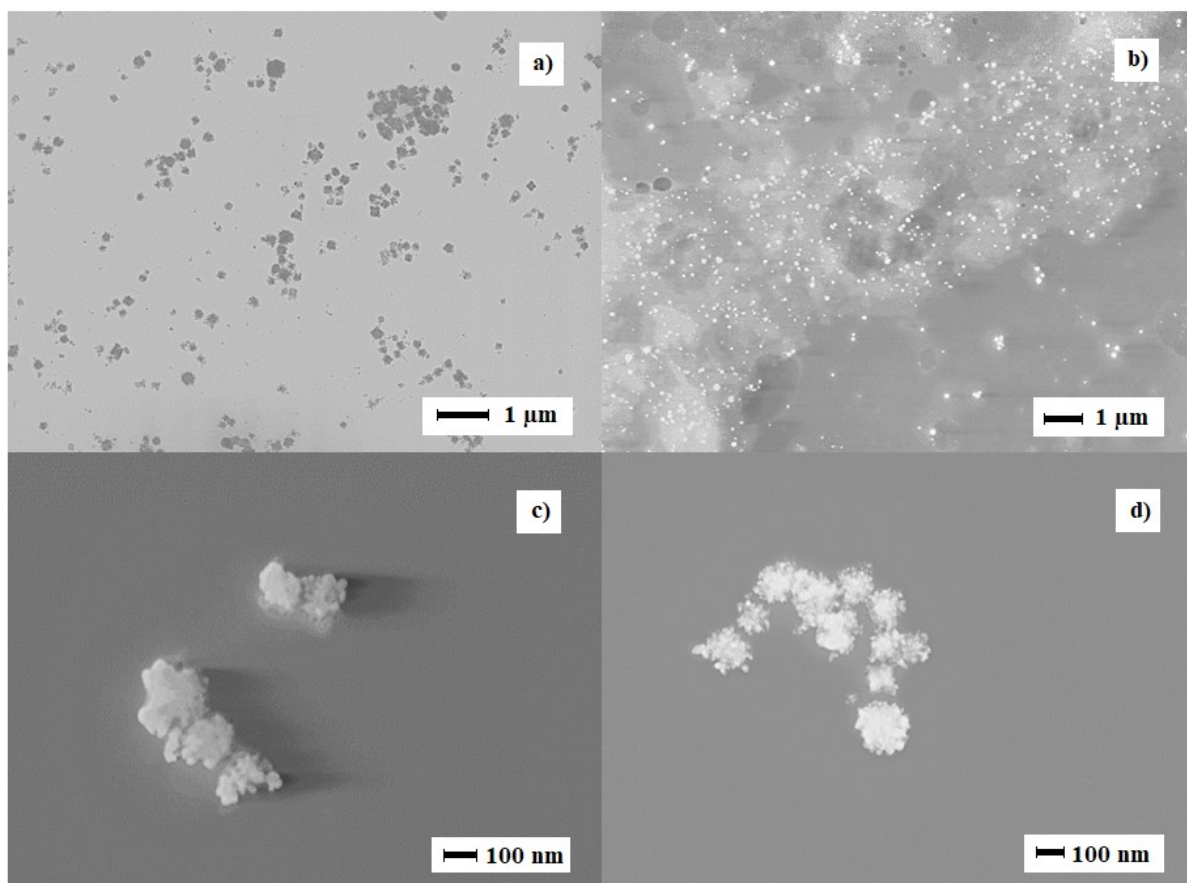


Obr. 30: STEM snímek stříbrných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 2 (a) vzorek Ag2_15, b) vzorek Ag2_30, c) vzorek Ag2_45, d) vzorek Ag2_60)

6.2.1 Biosyntéza na mikrofluidním čipu typ 3

Na mikrofluidním čipu typ 3 byly připraveny 4 vzorky při různých průtokových rychlostech. Pro vzorek Ag3_15 byla průtoková rychlost 15 ml/hod, pro vzorek Ag3_30 při 30 ml/hod, pro vzorek Ag3_45 při 45 ml/hod a při Ag3_60 ml/hod.

V porovnání s předešlými výsledky mají v tomto případě stříbrné nanočástice lepší krystalinitu a jsou lépe zformované, ačkoliv se i v tomto případě jedná o shluky. Jak jde vidět na snímcích ze STEM (Obr. 31), jsou shluky výrazně menší a velikostně velmi podobné. Při porovnání všech kontinuálně průtočných analýz (typů čipů i průtokových rychlostí) lze říci, že nejlepší výsledky pro syntézu nanočástic stříbra poskytuje čip typ 3 a průtoková rychlost 15 ml/hod (Obr. 31 a).

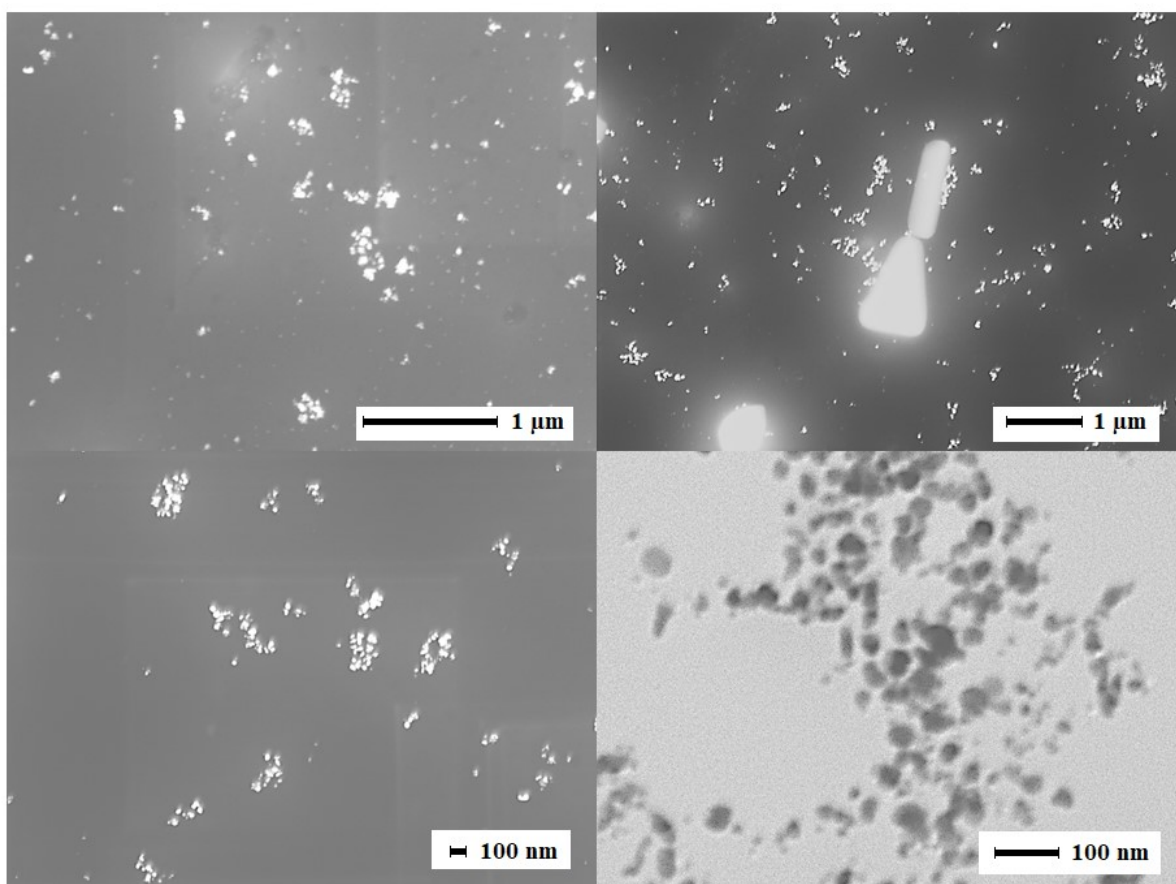


Obr. 31: STEM snímek stříbrných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 3 (a) vzorek Ag3_15, b) vzorek Ag3_30, c) vzorek Ag3_45, d) vzorek Ag3_60)

6.2.2 *Kapková biosyntéza na mikrofluidním čipu typ 5*

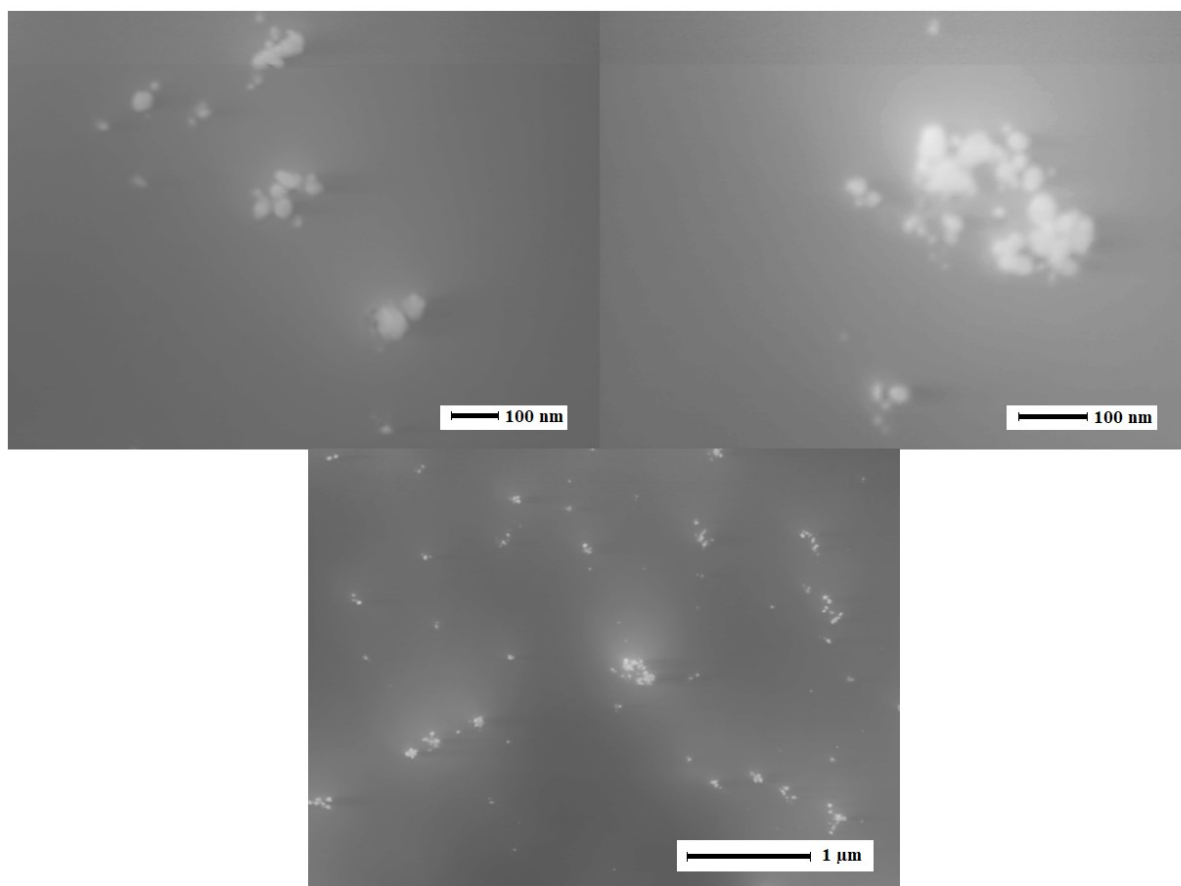
Olejovou kapkovou mikrofluidní metodou byly připraveny tři různé vzorky v závislosti na poměrech reaktantů. Pro tyto účely byl použit mikrofluidní čip typ 5, do kterého byly za různých průtokových rychlostí přiváděny složky výluh - prekursor - olej.

Pro vzorek Ag5_5:5:10 byly nastaveny průtočné rychlosti 5 ml/hod, 5 ml/hod a 10 ml/hod. Na snímku je dobře patrný rozdíl oproti biosyntézám na kontinuálně průtočných čípech. Jednotlivé stříbrné nanočástice mají sice tendenci agregovat, ale pouze ve velmi malé míře. Stříbrné nanočástice mají sférický tvar a velikost pod 40 nm (Obr. 32).



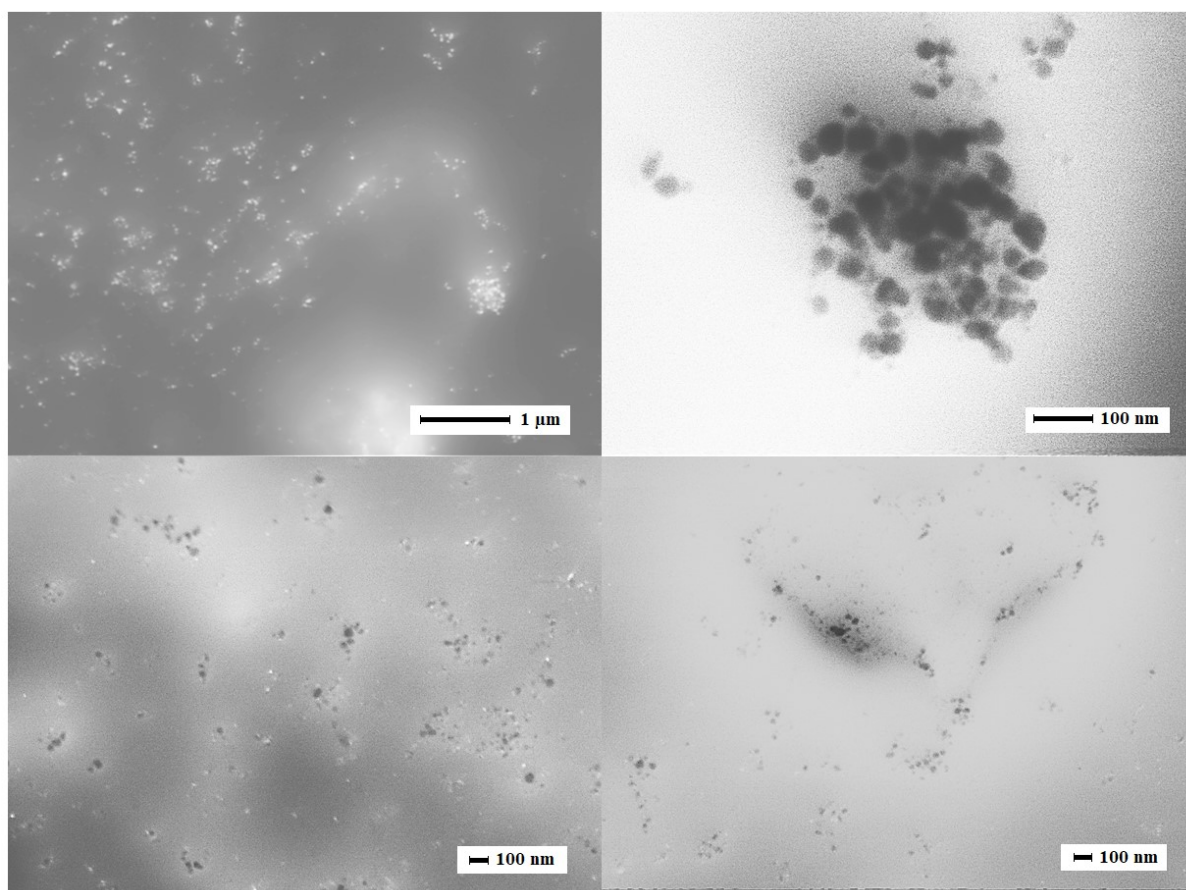
Obr. 32: Stříbrné nanočástice vzorku Ag5_5:5:10 připravené kapkovou mikrofluidní syntézou

Pro vzorek Ag5_5:5:20 byly průtoky nastaveny jako 5 ml/hod, 5 ml/hod a 20 ml/hod (Obr. 33). Nanočástice stříbra ve vzorku Ag5_5:5:20 jsou v porovnání s velikostí stříbrných nanočástic Ag5_5:5:10 menší. To je dáno díky větší průtokové rychlosti oleje, jednotlivé kapky jsou více oddělené a mají možnost vytvořit menší nanočástice.



Obr. 33: Stříbrné nanočástice vzorku Ag5_5:5:20 připravené kapkovou mikrofluidní syntézou

Nanočástice syntetizované při průtokových rychlostech 10 ml/hod, 10 ml/hod a 20 ml/hod pro vzorek Ag5_10:10:20 jsou sférického tvaru (Obr. 34). Jako u předešlých dvou vzorků jsou nanočástice stříbra oddělené a neagregují. Velikostně jsou nepatrně větší než nanočástice stříbra u vzorku Ag5_5:5:10. Toto je opět dáno průtokovou rychlostí, neboť ačkoliv poměry obou vzorků byly 1:1 reaktanty k oleji, průtoková rychlost celého objemu byla pro vzorek Ag5_10:10:20 dvojnásobná.



Obr. 34: Stříbrné nanočástice vzorku Ag5_10:10:20 připravené kapkovou mikrofluidní syntézou

7. Závěr

Diplomová práce se zaměřovala na biosyntézu zlatých a stříbrných nanočástic pomocí 3D tištěných mikrofluidních čipů. Biosyntéza probíhala za použití rostlinné biomasy, výluhu z *Picea abies* pro zlaté nanočástice a výluhu z *Tilia cordata* pro stříbrné nanočástice. Dále se práce zabývala charakterizací připravených nanočástic a srovnáním, zda mikrofluidní biosyntézou lze lépe ovlivňovat výsledné parametry nanočástic oproti vsádkové syntéze.

V teoretické části práce je zpracována literární rešerše z dostupné literatury zaměřená na biosyntézu nanočástic zlata a stříbra, mikrofluidní zařízení a mikrofluidní čipy. Pozornost byla také věnována veličinám ovlivňující chování kapaliny v mikrofluidních kanálcích.

Experimentální část práce je věnována realizaci experimentů. Nanočástice zlata i stříbra byly nejprve připravovány pomocí vsádkové syntézy a následně na jednotlivých čipech při různých průtokových rychlostech, s různou geometrií meandrů a za použití různě koncentrovaného výluhu (v případě zlata). Následně byly nanočástice charakterizovány pomocí skenovací transmisní elektronové mikroskopie.

Bylo zjištěno že:

- Zlaté nanočástice biosyntetizované vsádkovou metodou mají širokou distribuční křivku, průměrnou velikost nanočástic 48,95 nm a velkou tvarovou rozmanitost.
- Průtoková rychlost nastavená na mikrofluidním čipu typ 1 pro vzorky Au1_15, Au1_30 a Au1_60 se ukázala jako klíčová k ovládání monodisperzity, velikosti i tvaru zlatých nanočástic. Průměrná velikost nanočástic pro vzorek Au1_15 byla 34,10 nm, pro vzorek Au1_30 byla 31,38 nm a pro vzorek Au1_60 byla 31,00 nm. Ačkoliv se zvyšující se průtokovou rychlostí průměrná velikost nanočástic zlata klesala, nejideálnějších výsledků bylo dosaženo u vzorku Au1_15, který vykazoval nejužší distribuční křivku. Oproti vsádkovému experimentu, se ve vzorcích syntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 1 nacházely pouze sférické a trojúhelníkové zlaté nanočástice.
- Velký vliv měla i geometrie meandrů čipu a typ mikromixování. U vzorků s koncentrovaným výluhem z *Picea abies* biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 4, tedy Au4_5_{konc.} a Au4_15_{konc.} se průměrná velikost nanočástic ještě snížila, pro Au4_5_{konc.} na 27,12 nm a pro Au4_15_{konc.} na 32,11 nm. Tyto nanočástice

byly pouze sférického tvaru. Pro vzorky syntetizované se zředěným výluhem z *Picea abies*, tedy Au4_5_{ředěn.} a Au4_15_{ředěn.} byly výsledky ještě zajímavější. Distribuční křivky byly úzké a průměrná velikost pro Au4_5_{ředěn.} byla 18,63 nm a pro Au4_15_{ředěn.} byla 28,70 nm, přičemž zlaté nanočástice nabývaly různých tvarů. Nejideálnější kombinací pro biosyntézu zlata na mikrofluidních čípech se ukázala kombinace mikrofluidního čipu typ 4, ředěný výluh z *Picea abies*, a průtoková rychlost 5 ml/hod.

- Stříbrné nanočástice biosyntetizované vsádkovou metodou nabývaly velikostí pod 40 nm, byly sférických, trojúhelníkových a tyčinkových tvarů. Měly tendence se shlukovat.
- Při biosyntéze pomocí mikrofluidního čipu typ 1 se neprokázal vliv průtokové rychlosti na vlastnostech nanočástic stříbra. Ve všech vzorcích docházelo k agregaci stříbrných nanočástic, přičemž agregáty nabývaly sférických nebo pseudo-kubických tvarů o různých velikostech.
- I ve vzorcích biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 2 docházelo k výrazné agregaci stříbrných nanočástic ve všech vzorcích. Se snižující se průtokovou rychlostí lze pozorovat, že se agregáty stávají velikostně více uniformní.
- Při biosyntéze na mikrofluidním čipu typ 3 se výsledné stříbrné nanočástice velmi podobaly nanočásticím syntetizovaným na předchozích mikrofluidních čípech. Docházelo k agregaci stříbrných nanočástic a nejideálnější průtokovou rychlostí se opět ukazuje rychlost 15 ml/hod.
- Jediným mikrofluidním čipem určeným pro kapkovou syntézu byl mikrofluidní čip typ 5. Na něm byly biosyntetizovány nanočástice stříbra v silikonovém oleji. Ukázalo se, že tento způsob syntézy je ideální pro stříbrné nanočástice. Vzorek Ag5_5:5:10 se ukázal jako nejlepší. Díky poměru průtokových rychlostí byly vytvořeny podmínky pro biosyntézu sférických, samostatně oddělených stříbrných nanočástic. V porovnání se vzorkem Ag5_10:10:20, kdy poměr průtokových rychlostí byl zdvojnásoben, bylo vidět, že průměr nanočástic je větší než u vzorku Ag5_5:5:10.

Z poznatků získaných z měření se dá usoudit, že při nižších průtokových rychlostech dochází k lepším biochemickým redukcím a dochází k syntéze menších, monodisperznějších nanočástic. Nejvíce prokazatelnými výsledky tohoto tvrzení jsou syntézy zlatých nanočástic, které lze považovat ve srovnání se stříbrnými za modelové. U stříbrných nanočástic se

neprokázal přímý vliv průtokové rychlosti na jejich výsledné vlastnosti. Ten se prokázal až při kapkové biosyntéze na mikrofluidním čipu typ 5, kde silikonový olej zabraňoval doreagování stříbrných nanočástic ve zkumavce. Dalším faktorem, který pozitivně ovlivňoval vlastnosti biosyntetizovaných nanočástic byla geometrie meandrů. Čím složitější byla struktura meandrů, případně kombinace různých typů meandrů s mikromixérem, docházelo k lepšímu promíchání reaktantů a tvorbě menších, uniformnějších nanočástic.

Tato práce nastiňuje možnosti využití mikrofluidních čipů při biosyntézách kovových nanočástic. Tato metoda umožňuje rychlý způsob syntézy, za využití malého množství potřebných chemikálií. Ačkoliv se jedná o zajímavý, kontrolovatelný a ekonomicky přijatelný způsob syntézy nanočástic, pro další optimalizaci a pochopení mikrofluidní biosyntézy je v případě pokračování výzkumu nutné doplnit analýzy např. o sledování zeta potenciálu, absorbance pomocí UV-VIS, případně sledovat vývoj krystalizace nanočástic v roztoku v časových intervalech a rtg-difrakcí zvláště u stříbra ověřit jeho fázové složení.

Použitá literatura a zdroje

- [1] FILIPOVÁ, Zuzana, G. KRATOŠOVÁ, A. SCHRÖFEL a M. MAŠLÁŇ. Biosyntéza nanomateriálů. Olomouc, 2012. 978-80-244-3202-1.
- [2] IRAVANI, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry* 13(10): 2638-2650.
- [3] SIEGEL, Jakub, Marek STASZEK a Václav ŠVORČÍK. Nanočástice ušlechtilých kovů připravené v kapalinách. *Chem. Listy* 108. 2014, 1102–1112.
- [4] SÁDECKÁ, Jana, Ján LABUDA a Veronika URÍČKOVÁ. Potenciální aplikace v léčbě rakoviny, v elektronice, v biosenzorech pro detekci virů a bakterií, dodávání léků, zobrazování nádorů, fototerapii. *Chem. Listy* 106. 2012, 739 -744.
- [5] NOVOTNÁ, Kateřina Řízená příprava nanočástic stříbra v přítomnosti polyakrylátů s různou molekulovou hmotností. Olomouc, 2010, 80. Magisterská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, vedoucí práce RNDr. Aleš PANÁČEK, PH.D.
- [6] AHMAD, Nabeel, Sharad BHATNAGAR, Ritika SAXENA, Danish IQBAL, A.K. GHOSH a Rajiv DUTTA. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles: Kinetics, in vitro and in vivo study. DOI: 10.1016/J.MSEC.2017.03.282. ISBN 44 10.1016/j.msec.2017.03.282. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493116326583>
- [7] RASAEI, Iman, Maryam GHANNADNIA, Saeed BAGHSHAHI, Danish IQBAL, A.K. GHOSH a Rajiv DUTTA. Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Satureja hortensis* treated with NaCl and its antibacterial properties: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. DOI: 10.1016/J.MICROMESO.2018.01.032. ISBN 10.1016/j.micromeso.2018.01.032. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1387181118300477>
- [8] VIJAYARAGHAVAN, K., T. ASHOKKUMAR, Ritika SAXENA, Danish IQBAL, A.K. GHOSH a Rajiv DUTTA. Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. DOI: 10.1016/J.JECE.2017.09.026. ISBN 10.1016/j.jece.2017.09.026. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213343717304645>

- [9] BASNET, Parita, T. INAKHUNBI CHANU, Dhrubajyoti SAMANTA a Somenath CHATTERJEE. A review on bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using plant extracts as reductants and stabilizing agents. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 142. 2015, 73-79. DOI: 10.1016/J.JPHOTOBIO.2018.04.036. ISBN 10.1016/j.jphotobiol.2018.04.036. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134417314033>
- [10] ASHRAFI, Almamun. (2011). Quantum Confinement: An Ultimate Physics of Nanostructures. Dostupné také z: https://www.researchgate.net/figure/Nanomaterials-on-glass-substrates-by-grinding-up-Au-and-Ag-nanoparticles-to-small-sizes_fig1_260095518
- [11] SZUNERITS, Sabine & Boukherroub, Rabah. (2012). Sensing using localised surface plasmon resonance sensors. *Chemical communications (Cambridge, England)*. 48. 8999-9010. 10.1039/c2cc33266c. Dostupné také z: https://www.researchgate.net/figure/Scanning-electron-microscopy-images-of-metal-nanostructures-A-Silver-nanotriangles_fig8_229160257
- [12] WANG, Tj & Chang, Hsuan-Wei & Chen, Ji-Sheng & Chiang, H. P.. (2019). Nanotip-assisted photoreduction of silver nanostructures on chemically patterned ferroelectric crystals for surface enhanced Raman scattering. *Scientific Reports*. 9. 10.1038/s41598-019-47523-8. Dostupné také z: https://www.researchgate.net/figure/SEM-images-of-Ag-nanoparticles-photoreduced-on-the-PPE-templates-produced-with-the_fig2_334744617
- [13] LI, Bin, Gao NIU, Laixi SUN, Lu YAO, Chaoyang WANG a Yafei ZHANG. Design optimization and antireflection of silicon nanowire arrays fabricated by Au-assisted chemical etching. *Materials Science in Semiconductor Processing* [online]. 2018, 82, 1-8 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.mssp.2018.03.026. ISSN 13698001. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369800118304025>
- [14] TIBBETTS, Katharine. Laser ablation in liquid: A powerful route to new nanoparticle catalysts. *Research Outreach* [online]. 2019, (106), 50-53 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.32907/RO-106-5053. Dostupné z: <https://researchoutreach.org/articles/laser-ablation-liquid-new-nanoparticle-catalysts/>

- [15] KRÓL-GRACZ, Agnieszka, Ewa MICHALAK, Piotr NOWAK a Agnieszka DYONIZY. Photo-induced chemical reduction of silver bromide to silver nanoparticles. *Open Chemistry* [online]. 2011, 9(6) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.2478/s11532-011-0085-8. ISSN 2391-5420. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/chem.2011.9.issue-6/s11532-011-0085-8/s11532-011-0085-8.xml>
- [16] WANG, Hongshui, Xueliang QIAO, Jianguo CHEN a Shiyuan DING. Preparation of silver nanoparticles by chemical reduction method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2005, 256(2-3), 111-115 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2004.12.058. ISSN 09277757. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775705000142>
- [17] DARUICH DE SOUZA, Carla, Beatriz RIBEIRO NOGUEIRA a Maria Elisa C.M. ROSTELATO. Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. *Journal of Alloys and Compounds* [online]. 2019, 798, 714-740 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.jallcom.2019.05.153. ISSN 09258388. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092583881931833X>
- [18] MIHALY, Maria, Madalina Camelia FLEANCU, Nicoleta Liliana OLTEANU, Dionezie BOJIN, Aurelia MEGHEA a Marius ENACHESCU. Synthesis of gold nanoparticles by microemulsion assisted photoreduction method. *Comptes Rendus Chimie* [online]. 2012, 15(11-12), 1012-1021 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.crci.2012.09.013. ISSN 16310748. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1631074812002299>
- [19] ZHANG, Wanzhong, Xueliang QIAO a Jianguo CHEN. Synthesis of silver nanoparticles—Effects of concerned parameters in water/oil microemulsion. *Materials Science and Engineering: B* [online]. 2007, 142(1), 1-15 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.mseb.2007.06.014. ISSN 09215107. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921510707002747>
- [20] ROLDÁN, M. Virginia, Nora PELLEGRINI a Oscar DE SANCTIS. Electrochemical Method for Ag-PEG Nanoparticles Synthesis. *Journal of Nanoparticles* [online]. 2013, 2013, 1-7 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1155/2013/524150. ISSN 2314-484X. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/archive/2013/524150/>

- [21] GUADALUPE HARO-GONZÁLEZ, Patricia. Synthesis of Gold Nanoparticles in Aqueous Solutions by Electrochemical Reduction Using poly(ethylen glycol) as Stabilizer. *International Journal of Electrochemical Science* [online]. 2019, , 9704-9710 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.20964/2019.10.10. ISSN 14523981. Dostupné z: <http://www.electrochemsci.org/abstracts/vol14/141009704.pdf>
- [22] PHILIP, Daizy. Biosynthesis of Au, Ag and Au–Ag nanoparticles using edible mushroom extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2009, 73(2), 374-381 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.saa.2009.02.037. ISSN 13861425. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142509001103>
- [23] SINGH, Priyanka, Yu-Jin KIM, Dabing ZHANG a Deok-Chun YANG. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends in Biotechnology* [online]. 2016, 34(7), 588-599 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.tibtech.2016.02.006. ISSN 01677799. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779916000408>
- [24] DAHOUMANE, Si Amar, Claude YÉPRÉMIAN, Chakib DJÉDIAT, Alain COUTÉ, Fernand FIÉVET, Thibaud CORADIN a Roberta BRAYNER. A global approach of the mechanism involved in the biosynthesis of gold colloids using micro-algae. *Journal of Nanoparticle Research* [online]. 2014, 16(10) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1007/s11051-014-2607-8. ISSN 1388-0764. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11051-014-2607-8>
- [25] BASKARAN, Balraj, Arulmozhi MUTHUKUMARASAMY, Siva CHIDAMBARAM, Abimanyu SUGUMARAN, Krithikadevi RAMACHANDRAN a Thaneswari RASU MANIMUTHU. Cytotoxic potentials of biologically fabricated platinum nanoparticles from *Streptomyces* sp. on MCF-7 breast cancer cells. *IET Nanobiotechnology* [online]. 2017, 11(3), 241-246 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1049/iet-nbt.2016.0040. ISSN 1751-8741. Dostupné z: <https://digital-library.theiet.org/content/journals/10.1049/iet-nbt.2016.0040>
- [26] WANG, Xiaodong, Tony SABA, Humphrey H.P. YIU, Russell F. HOWE, James A. ANDERSON a Jiafu SHI. Cofactor NAD(P)H Regeneration Inspired by Heterogeneous Pathways. *Chem* [online]. 2017, 2(5), 621-654 [cit. 2020-06-05]. DOI:

- 10.1016/j.chempr.2017.04.009. ISSN 24519294. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2451929417301754>
- [27] PETTEGREW, Colin, Zheng DONG, M. Zubayed MUHI, Scott PEASE, M. Abdul MOTTALEB a M. Rafiq ISLAM. Silver Nanoparticle Synthesis Using Monosaccharides and Their Growth Inhibitory Activity against Gram-Negative and Positive Bacteria. *ISRN Nanotechnology* [online]. 2014, 2014, 1-8 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1155/2014/480284. ISSN 2090-6072. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/archive/2014/480284/>
- [28] GONZÁLEZ, Felisa, María Luisa BLÁZQUEZ, Jesus Angel MUÑOZ, Antonio BALLESTER a Laura CASTRO. Biological synthesis of metallic nanoparticles using algae. *IET Nanobiotechnology* [online]. 2013, 7(3), 109-116 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1049/iet-nbt.2012.0041. ISSN 1751-8741. Dostupné z: <https://digital-library.theiet.org/content/journals/10.1049/iet-nbt.2012.0041>
- [29] BAO, Zeqing a Christopher Q. LAN. Mechanism of light-dependent biosynthesis of silver nanoparticles mediated by cell extract of *Neochloris oleoabundans*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2018, 170, 251-257 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.06.001. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776518303722>
- [30] BHAT, Ravishankar, Raghunandan DESHPANDE, Sharanabasava V. GANACHARI, Do Sung HUH a A. VENKATARAMAN. Photo-Irradiated Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Edible Mushroom *Pleurotus florida* and Their Antibacterial Activity Studies. *Bioinorganic Chemistry and Applications* [online]. 2011, 2011, 1-7 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1155/2011/650979. ISSN 1565-3633. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/bca/2011/650979/>
- [31] SHABNAM, Nisha, P. PARDHA-SARADHI a Nikolai LEBEDEV. Photosynthetic Electron Transport System Promotes Synthesis of Au-Nanoparticles. *PLoS ONE* [online]. 2013, 8(8) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1371/journal.pone.0071123. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0071123>
- [32] BAO, Zeqing a Christopher Q. LAN. Mechanism of light-dependent biosynthesis of silver nanoparticles mediated by cell extract of *Neochloris oleoabundans*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2018, 170, 251-257 [cit. 2020-06-05]. DOI:

- 10.1016/j.colsurfb.2018.06.001. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776518303722>
- [33] DVOŘÁČKOVÁ J., 2003, Rychlokurz chemie: od základní školy k přijímacím zkouškám na vysokou školu, První vydání, Olomouc, Rubico, 238 str., ISBN: 80-85839-42-3
- [34] BARNES, William L., Alain DEREUX a Thomas W. EBBESEN. Surface plasmon subwavelength optics. *Nature* [online]. 2003, 424(6950), 824-830 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1038/nature01937. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature01937>
- [35] KVÍTEK, Ondřej. Nanostruktury zlata: příprava, vlastnosti a vybrané aplikace. *Chem. listy* 110 [online]. 10. 10. 2016, , 922 - 930 [cit. 2020-06-05]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2016_12_922-930.pdf
- [36] SALIH MAHDI, Hadeel a Azra PARVEEN. Biosynthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Gold Nanoparticles (Au-NPs) using Black Lemon Extract. *Materials Today: Proceedings* [online]. 2019, 18, 5164-5169 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.matpr.2019.07.514. ISSN 22147853. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214785319327038>
- [37] LUNA, Manuel a spol., Biosynthesis of uniform ultra-small gold nanoparticles by aged *Dracaena Draco* L extracts, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Volume 581, [online]. 2019, 123744, ISSN 0927-7757, [cit. 2020-06-05]. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123744>. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775719307320>
- [38] JIAO, Tifeng. Facile biosynthesis and grown mechanism of gold nanoparticles in *pueraria lobata* extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2019, 567, 69-75 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2019.01.039. ISSN 09277757. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775719300330>
- [39] BAO, Zeqing a Christopher Q. LAN. Advances in biosynthesis of noble metal nanoparticles mediated by photosynthetic organisms—A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2019, 184 [cit. 2020-06-05]. DOI:

- 10.1016/j.colsurfb.2019.110519. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776519306630>
- [40] DAUTHAL, Preeti a Mausumi MUKHOPADHYAY. Phyto-synthesis and structural characterization of catalytically active gold nanoparticles biosynthesized using *Delonix regia* leaf extract. 3 Biotech [online]. 2016, 6(2) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1007/s13205-016-0432-8. ISSN 2190-572X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13205-016-0432-8>
- [41] MISHRA, Pratik, Sambit RAY, Sayantan SINHA, et al. Facile bio-synthesis of gold nanoparticles by using extract of *Hibiscus sabdariffa* and evaluation of its cytotoxicity against U87 glioblastoma cells under hyperglycemic condition. Biochemical Engineering Journal [online]. 2016, 105, 264-272 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.bej.2015.09.021. ISSN 1369703X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369703X15300668>
- [42] JHA, Anal K. a K. PRASAD. Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using Bael (*Aegle marmelos*) Leaf: Mythology Meets Technology. International Journal of Green Nanotechnology [online]. 2011, 3(2), 92-97 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1080/19430892.2011.574560. ISSN 1943-0892. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19430892.2011.574560>
- [43] SETT, Arghya, Manoj GADEWAR, Pragya SHARMA, Manab DEKA a Utpal BORA. Green synthesis of gold nanoparticles using aqueous extract of *Dillenia indica*. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology [online]. 2016, 7(2) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1088/2043-6262/7/2/025005. ISSN 2043-6262. Dostupné z: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2043-6262/7/2/025005>
- [44] AHMAD, Nabeel, Sharad BHATNAGAR, Ritika SAXENA, Danish IQBAL, A.K. GHOSH a Rajiv DUTTA. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles: Kinetics, in vitro and in vivo study. Materials Science and Engineering: C [online]. 2017, 78, 553-564 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.msec.2017.03.282. ISSN 09284931. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493116326583>
- [45] AYAZ AHMED, Khan Behlol, Swetha SUBRAMANIAN, Aravind SIVASUBRAMANIAN, Ganapathy VEERAPPAN a Anbazhagan VEERAPPAN.

- Preparation of gold nanoparticles using *Salicornia brachiata* plant extract and evaluation of catalytic and antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2014, 130, 54-58 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.saa.2014.03.070. ISSN 13861425. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142514004818>
- [46] SUDHA, S & Rajamanickam, Karthic & Rengaramanujam, Jayaraman. (2013). Microalgae mediated synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Indian journal of experimental biology*. 51. 393-9.
- [47] BASAVEGOWDA, Nagaraj a Yong Rok LEE. Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Perilla Frutescens*—A Biogenic Approach. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* [online]. 2014, 14(6), 4377-4382 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1166/jnn.2014.8646. ISSN 15334880. Dostupné z: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1533-4880&volume=14&issue=6&spage=4377>
- [48] DWIVEDI, Amarendra Dhar a Krishna GOPAL. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2010, 369(1-3), 27-33 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2010.07.020. ISSN 09277757. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775710004127>
- [49] SHITTU, K O a O IHEBUNNA. Purification of simulated waste water using green synthesized silver nanoparticles of *Piliostigma thonningii* aqueous leave extract. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology* [online]. 2017, 8(4) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1088/2043-6254/aa8536. ISSN 2043-6262. Dostupné z: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2043-6254/aa8536>
- [50] SANGAONKAR, Geetanjali M. a Kiran D. PAWAR. *Garcinia indica* mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles with antibacterial and antioxidant activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2018, 164, 210-217 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.01.044. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776518300523>
- [51] NAZ, Sania, Fahad SHAMS, Saira TABASSUM, Ihsan UL-HAQ, Muhammad ASHRAF a Muhammad ZIA. Kinnow peel extract as a reducing and capping agent for

- the fabrication of silver NPs and their biological applications. IET Nanobiotechnology [online]. 2017, 11(8), 1040-1045 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1049/iet-nbt.2017.0082. ISSN 1751-8741. Dostupné z: <https://digital-library.theiet.org/content/journals/10.1049/iet-nbt.2017.0082>
- [52] AHLUWALIA, Vivek, Sasikumar ELUMALAI, Vinod KUMAR, Sandeep KUMAR a Rajender Singh SANGWAN. Nano silver particle synthesis using *Swertia paniculata* herbal extract and its antimicrobial activity. Microbial Pathogenesis [online]. 2018, 114, 402-408 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.11.052. ISSN 08824010. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088240101731313X>
- [53] SOWMYYA T, Vijaya Lakshmi G. Antimicrobial and Catalytic Potential of *Soymida febrifuga* Aqueous Fruit Extract-Engineered Silver Nanoparticles. BioNanoScience [online]. 2018, 8(1), 179-195 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1007/s12668-017-0458-3. ISSN 2191-1630. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12668-017-0458-3>
- [54] PAUL DAS, Merina, Jeyanthi REBECCA LIVINGSTONE, Pandiyarasan VELUSWAMY a Jayabrata DAS. Exploration of *Wedelia chinensis* leaf-assisted silver nanoparticles for antioxidant, antibacterial and in vitro cytotoxic applications. Journal of Food and Drug Analysis [online]. 2018, 26(2), 917-925 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.jfda.2017.07.014. ISSN 10219498. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1021949817301515>
- [55] PATIL, Bheemanagouda N. a T.C. TARANATH. *Limonia acidissima* L. leaf mediated synthesis of silver and zinc oxide nanoparticles and their antibacterial activities. Microbial Pathogenesis [online]. 2018, 115, 227-232 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.035. ISSN 08824010. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401017305740>
- [56] NAKKALA, Jayachandra Reddy, Rani MATA, Arvind Kumar GUPTA a Sudha Rani SADRAS. Biological activities of green silver nanoparticles synthesized with *Acorous calamus* rhizome extract. European Journal of Medicinal Chemistry [online]. 2014, 85, 784-794 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.08.024. ISSN 02235234. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S022352341400751X>

- [57] LIU, Hongyu, Jiale HUANG, Daohua SUN, Tareque ODOOM-WUBAH, Jun LI a Qingbiao LI. Continuous-flow biosynthesis of Au–Ag bimetallic nanoparticles in a microreactor. *Journal of Nanoparticle Research* [online]. 2014, 16(11) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1007/s11051-014-2698-2. ISSN 1388-0764. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11051-014-2698-2>
- [58] SONG, Y. et al. Microfluidic Synthesis of Nanomaterials. *Small* [online]. 2008, 4(6), 698-711 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1002/sml.200701029. ISSN 16136810. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/sml.200701029>
- [59] LIU, Hongyu, Jiale HUANG, Daohua SUN, et al. Microfluidic biosynthesis of silver nanoparticles: Effect of process parameters on size distribution. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2012, 209, 568-576 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.cej.2012.08.049. ISSN 13858947. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138589471201114X>
- [60] TEPLICKÁ, Silvia. Fytosyntéza zlatých a strieborných nanočastíc na mikrofluidnom čípe. Ostrava, 2018. Diplomová práca. VŠB – Technická univerzita Ostrava. Univerzitné študijné programy. Vedúci práce: Ing. Gabriela Kratošová, Ph.D.
- [61] MOHITE, Pallavi, Mugdha APTE, Ameeta Ravi KUMAR a Smita ZINJARDE. Biogenic Nanoparticles from *Schwanniomyces occidentalis* NCIM 3459: Mechanistic Aspects and Catalytic Applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology* [online]. 2016, 179(4), 583-596 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1007/s12010-016-2015-x. ISSN 0273-2289. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12010-016-2015-x>
- [62] DE CORTE, Simon, Tom HENNEBEL, Bart DE GUSSEME, Willy VERSTRAETE a Nico BOON. Bio-palladium: from metal recovery to catalytic applications. *Microbial Biotechnology* [online]. 2012, 5(1), 5-17 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2011.00265.x. ISSN 17517915. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-7915.2011.00265.x>
- [63] KRATOŠOVÁ, Gabriela, Veronika HOLIŠOVÁ, Zuzana KONVIČKOVÁ, et al. From biotechnology principles to functional and low-cost metallic bionanocatalysts. *Biotechnology Advances* [online]. 2019, 37(1), 154-176 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.012. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975018301964>

- [64] GUZMAN, Maribel, Jean DILLE a Stéphane GODET. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* [online]. 2012, 8(1), 37-45 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.nano.2011.05.007. ISSN 15499634. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1549963411001791>
- [65] MALLMANN, Eduardo José J., Francisco Afrânio CUNHA, Bruno N.M.F. CASTRO, Auberson Martins MACIEL, Everardo Albuquerque MENEZES a Pierre Basílio Almeida FECHINE. ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES OBTAINED BY GREEN SYNTHESIS. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* [online]. 2015, 57(2), 165-167 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1590/S0036-46652015000200011. ISSN 0036-4665. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652015000200165&lng=en&tlng=en
- [66] ROY, Bishnupada, Suprabhat MUKHERJEE, Niladri MUKHERJEE, Pranesh CHOWDHURY a Santi P. SINHA BABU. Design and green synthesis of polymer inspired nanoparticles for the evaluation of their antimicrobial and antifilarial efficiency. *RSC Advances* [online]. 2014, 4(65) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1039/C4RA03732D. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA03732D>
- [67] MISHRA, Pratik, Sambit RAY, Sayantan SINHA, et al. Facile bio-synthesis of gold nanoparticles by using extract of Hibiscus sabdariffa and evaluation of its cytotoxicity against U87 glioblastoma cells under hyperglycemic condition. *Biochemical Engineering Journal* [online]. 2016, 105, 264-272 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.bej.2015.09.021. ISSN 1369703X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369703X15300668>
- [68] SACKMANN, Eric K, Anna L FULTON and David J BEEBE. The present and future role of microfluidics in biomedical research. *Nature* [online]. 2014, vol. 507, no. 7491, pp. 181–9. 10.1038/nature13118
- [69] WARNER, R.M. Microelectronics: its unusual origin and personality. *IEEE Transactions on Electron Devices* [online]. 48(11), 2457-2467 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1109/16.960368. ISSN 00189383. Dostupné z: <http://ieeexplore.ieee.org/document/960368/>

- [70] ROSS, Ian M. The Foundation of the Silicon Age. *Physics Today* [online]. 1997, 50(12), 34-39 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1063/1.881628. ISSN 0031-9228. Dostupné z: <http://physicstoday.scitation.org/doi/10.1063/1.881628>
- [71] CONVERY, Neil a Nikolaj GADEGAARD. 30 years of microfluidics. *Micro and Nano Engineering* [online]. 2019, 2, 76-91 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.mne.2019.01.003. ISSN 25900072. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590007-219300036>
- [72] SWEET, Richard G. High Frequency Recording with Electrostatically Deflected Ink Jets. *Review of Scientific Instruments* [online]. 1965, 36(2), 131-136 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1063/1.1719502. ISSN 0034-6748. Dostupné z: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1719502>
- [73] ABRAHÁM, M. *Mikrofluidika*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2014. 45 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Pavel Rudolf, Ph.D..
- [74] WIRTH, Thomas, ed. *Microreactors in Organic Synthesis and Catalysis* [online]. Wiley, 2008 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1002/9783527622856. ISBN 9783527318698.
- [75] SHARP, Kendra & Adrian, Ronald & Santiago, Juan & Molho, J.I.. (2005). Liquid flows in microchannels.
- [76] REVUELTA, Antonio, Javier RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ a Carlos MARTÍNEZ-BAZÁN. On the breakup of bubbles at high Reynolds numbers and subcritical Weber numbers. *European Journal of Mechanics - B/Fluids* [online]. 2008, 27(5), 591-608 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.euromechflu.2007.10.004. ISSN 09977546. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0997754607000970>
- [77] CHATTERJEE, Jaideep. Critical Eotvos numbers for buoyancy-induced oil drop detachment based on shape analysis. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2002, 98(3), 265-283 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/S0001-8686(01)00098-7. ISSN 00018686. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868601000987>
- [78] *Microreactors*. Micronit microfluidics [online]. 2015 [cit. 2020-06-05]. Dostupné z: <http://www.micronit.com/products/microreactors/>

- [79] SHEN, Feng, Yi LI, Zhao-Miao LIU, Ren-Tuo CAO a Gui-Ren WANG. Advances in Micro-Droplets Coalescence Using Microfluidics. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2015, 43(12), 1942-1954 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/S1872-2040(15)60886-6. ISSN 18722040. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1872204015608866>
- [80] KÖHLER, J.M, Th HENKEL, A GRODRIAN, Th KIRNER, M ROTH, K MARTIN a J METZE. Digital reaction technology by micro segmented flow—components, concepts and applications. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2004, 101(1-3), 201-216 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/j.cej.2003.11.025. ISSN 13858947. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894703003322>
- [81] ZHANG, Jia Ming, Er Qiang LI, Andres A. AGUIRRE-PABLO a Sigurdur T. THORODDSEN. A simple and low-cost fully 3D-printed non-planar emulsion generator. *RSC Advances* [online]. 2016, 6(4), 2793-2799 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1039/C5RA23129A. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA23129A>
- [82] WU, Hongkai, Bo HUANG a Richard N. ZARE. Construction of microfluidic chips using polydimethylsiloxane for adhesive bonding. *Lab on a Chip* [online]. 2005, 5(12) [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1039/b510494g. ISSN 1473-0197. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b510494g>
- [83] TABELING, P. Introduction to microfluidics. New York: Oxford University Press, 2005. ISBN 0198568649
- [84] SACKMANN, Eric K, Anna L FULTON and David J BEEBE. The present and future role of microfluidics in biomedical research. *Nature* [online]. 2014, vol. 507, no. 7491, pp. 181–9. 10.1038/nature13118
- [85] PEKSA V., Konstrukce a testování mikrofluidního zařízení pro Ramanovu mikroskopii, Praha, 2010, Bakalářská práce, Vedoucí práce doc. RNDr. Peter Mojzeš, CSc.
- [86] REN, Kangning, Jianhua ZHOU a Hongkai WU. Materials for Microfluidic Chip Fabrication. *Accounts of Chemical Research* [online]. 2013, 46(11), 2396-2406 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1021/ar300314s. ISSN 0001-4842. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ar300314s>

- [87] LOPEZ-RUIZ, Nuria, Vincenzo F. CURTO, Miguel M. ERENAS, Fernando BENITO-LOPEZ, Dermot DIAMOND, Alberto J. PALMA a Luis F. CAPITAN-VALLVEY. Smartphone-Based Simultaneous pH and Nitrite Colorimetric Determination for Paper Microfluidic Devices. *Analytical Chemistry* [online]. 2014, 86(19), 9554-9562 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1021/ac5019205. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac5019205>
- [88] KEÇILI, Rüstem, Sibel BÜYÜKTIRYAKI a Chaudhery Mustansar HUSSAIN. Micro total analysis systems with nanomaterials. *Handbook of Nanomaterials in Analytical Chemistry* [online]. Elsevier, 2020, 2020, s. 185-198 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-816699-4.00008-6. ISBN 9780128166994. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128166994000086>
- [89] Introduction to lab-on-a-chip 2015 : review, history and future. Elveflow [online]. 2016 [cit. 2020-06-05]. Dostupné z: <http://www.elveflow.com/microfluidic-tutorials/microfluidic-reviews-and-tutorials/introduction-to-lab-on-a-chip-2015-review-history-and-future/>
- [90] ALRIFAIY, Ahmed, Olof A. LINDAHL a Kerstin RAMSER. Polymer-Based Microfluidic Devices for Pharmacy, Biology and Tissue Engineering. *Polymers*. 2012, vol. 4, issue 4, s. 1349-1398. DOI: 10.3390/polym4031349. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/4/3/1349/>
- [91] CAPRETTO, Lorenzo, Wei CHENG, Martyn HILL a Xunli ZHANG. Micromixing Within Microfluidic Devices. [online]. s. 27 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1007/128_2011_150. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/128_2011_150

Seznam obrázků

Obr. 1: Rozdělení metod používaných pro výrobu nanočástic a zařazení biosyntéz. Schéma je doplněné snímky z elektronového mikroskopu, na kterých jsou pro ilustraci zobrazeny nanočástice zlata a stříbra připravené danou metodou [upraveno 10 - 22]	14
Obr. 2: Molekulární struktura NADH a NAD ⁺ [převzato a upraveno z 26]	15
Obr. 3: Syntéza stříbrných nanočástic v závislosti na světelných podmínkách [upraveno 30]	16
Obr. 4: Barevná změna roztoku koloidního zlata na základě velikosti nanočástic [35]	17
Obr. 5: Schématické znázornění a) laminárního proudění, b) turbulentního proudění [74]	26
Obr. 6: Mikrofluidní čip zanesený zlatými částicemi	28
Obr. 7: Mikrofluidní čip s kontinuálním tokem [78]	30
Obr. 8: (a) správné mísení kapiček v bodě spoje dvou kanálků, (b) nesmísení dvou tekutin v bodě spoje dvou kanálků [79]	31
Obr. 9: Schématické znázornění možností spojování kapiček [převzato a upraveno z 80]	32
Obr. 10: Příklad skleněného mikrofluidního čipu [85]	34
Obr. 11: Mikrofluidní zařízení z papíru pro testování vzorků [87]	36
Obr. 12: Lab-on-a-Chip [89]	37
Obr. 13: (a) rozprostření fotoreaktivního materiálu po povrchu ze skla nebo křemíku pomocí spin coateru, (b) působení UV zářením na fotorezist přes masku, (c) výsledný pozitiv nebo negativ [90]	38
Obr. 14: Mikrofluidní aparatura	42
Obr. 15: Znázornění geometrie meandrů jednotlivých mikrofluidních čipů, a) typ 1 – reálný stav po reakci, b) typ 2 - náčrt, c) typ 3 - náčrt, d) typ 4 – reálný stav po reakci, e) typ 5 – záznam z „in-situ“ sledování průtočného procesu	43
Obr. 16: Vzorek Au_V minutu po smíchání výluhu z Picea abies (konc.) a 1 mM roztoku HAuCl ₄	47
Obr. 17: Charakterizace vzorku Au_V pomocí STEM a histogram distribuce velikosti nanočástic zlata	48
Obr. 18: Vzorky syntetizované na mikrofluidním čipu typ 1	48
Obr. 19: Charakterizace vzorku Au1_15 pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata	49
Obr. 20: Charakterizace vzorku Au1_30 pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata	50

Obr. 21: Charakterizace vzorku Au1_60 pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata	50
Obr. 22: Vzorky syntetizované na mikrofluidním čipu typ 4 a vzorek biosyntetizovaný vsádkovou metodou.....	51
Obr. 23: Charakterizace vzorku Au4_5 _{konc.} pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata	52
Obr. 24: Charakterizace vzorku Au4_15 _{konc.} pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata	52
Obr. 25: Charakterizace vzorku Au4_5 _{ředěn.} pomocí TEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata	52
Obr. 26: Charakterizace vzorku Au4_15 _{ředěn} pomocí STEM a histogram distribuce velikostí nanočástic zlata	53
Obr. 27: Vzorek Ag_V, stříbrné nanočástice zobrazené metodou STEM	55
Obr. 28: STEM snímek stříbrných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 1 (a) vzorek Ag1_15, b) vzorek Ag1_30, c) vzorek Ag1_45, d) vzorek Ag1_60)	56
Obr. 29: Snímek pořízený metodou STEM pro vzorek Ag2_15.....	57
Obr. 30: STEM snímek stříbrných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 2 (a) vzorek Ag2_15, b) vzorek Ag2_30, c) vzorek Ag2_45, d) vzorek Ag2_60)	58
Obr. 31: STEM snímek stříbrných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu typ 3 (a) vzorek Ag3_15, b) vzorek Ag3_30, c) vzorek Ag3_45, d) vzorek Ag3_60)	59
Obr. 32: Stříbrné nanočástice vzorku Ag5_5:5:10 připravené kapkovou mikrofluidní syntézou	60
Obr. 33: Stříbrné nanočástice vzorku Ag5_5:5:20 připravené kapkovou mikrofluidní syntézou	61
Obr. 34: Stříbrné nanočástice vzorku Ag5_10:10:20 připravené kapkovou mikrofluidní syntézou.....	62

Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled vybraných biosyntetizovaných zlatých nanočástic a jejich charakteristika	18
Tabulka 2: Přehled vybraných biosyntetizovaných stříbrných nanočástic a jejich charakteristika	19
Tabulka 3: Přehled vybraných nanočástic biosyntetizovaných na mikrofluidním čipu.....	20
Tabulka 4: Charakteristické vlastnosti pro sklo užívané k výrobě mikrofluidních zařízení ^[74]	35
Tabulka 5: Charakteristické vlastnosti pro křemík užívaný k výrobě mikrofluidních zařízení ^[74]	35
Tabulka 6: Shrnutí označení všech vzorků pro zlaté nanočástice	44
Tabulka 7: Shrnutí označení všech vzorků pro stříbrné nanočástice	45
Tabulka 8: Shrnutí výsledků měření zlatých nanočástic pro všechny vzorky	54